

Aus dem Institut für Humangenetik der Philipps-Universität Marburg
Direktor: Prof. Dr. med. G. G. Wendt

Zur Wirkung von Sauerstoffmangel,
Sauerstoffüberschuß und Vitamin E
auf die Aktivität der Monoaminoxidase
(MAO, E.C. 1.4.3.4.) in
verschiedenen Rattenorganen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Humanbiologie
des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

WOLFGANG JOACHIM HOLTHOFF

aus Braunschweig

Marburg 1976

Druck: Mauersberger, Marburg

Aus dem Institut für Humangenetik der Philipps-Universität Marburg
Direktor: Prof. Dr. med. G.G. Wendt

Zur Wirkung von Sauerstoffmangel,
Sauerstoffüberschuß und Vitamin E
auf die Aktivität der Monoaminoxidase
(MAO, E.C. 1.4.3.4.) in
verschiedenen Rattenorganen

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Humanbiologie
des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

WOLFGANG JOACHIM HOLTHOFF

aus Braunschweig

Marburg 1976

Druck: Mauersberger, Marburg



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am 20. Februar 1976

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr.med. H. Oepen
Referent: Prof. Dr.med. H. Oepen
Correferent: Prof. Dr.med. W. Schiff

<u>Inhaltsübersicht</u>	Seite
I. <u>Einleitung</u>	1
II. <u>Material und Methode</u>	3
A. <u>Untersuchungsgut</u>	3
1. Tiermaterial	3
2. Untersuchungsmaterial	3
3. Gewinnung des Untersuchungsmaterials	3
B. <u>Methode</u>	4
1. Prinzip der MAO-Bestimmung	4
2. Inkubationslösung	5
3. Arbeitsablauf	5
C. <u>Verwendete Reinsubstanzen und Gase</u>	5
1. Feinchemikalien für die Inkubationslösung	5
2. Vitamin E	5
3. Sauerstoff und Stickstoff	5
D. <u>Arbeitsbedingungen</u>	6
1. Tageszeitlicher Arbeitsrhythmus	6
2. Vorbehandlung der Versuchstiere	6
3. Laborbedingungen während der Versuchsdurchführung	7
E. <u>Versuchsdurchführung</u>	7
1. Kontrollversuche	7
2. Sauerstoffversuche	7
a) Einstündiger Sauerstoffmangel bei Normaldruck	7
b) 1- und 24-stündiger Sauerstoffüberschuß bei Normaldruck	9
c) Einstündige Gabe reinen Sauerstoffs bei Unterdruck	10
d) Einstündige Gabe reinen Sauerstoffs bei Überdruck	11

3. Vitamin-E-Versuche	12
a) Zehntägige Gabe von 100 mg Vitamin E/kg Rattengewicht i.m. pro die	
b) 28-tägiger Vitamin-E-Mangel	12
 F. <u>In-vitro-Versuche</u>	12
1. Sauerstoffdurchströmung von Hirnhomogenaten verschiedener Tierspezies während der Enzyminkubation	12
2. Vitamin-E-Zusatz zu Schweinehirnhomogenaten	13
 III. <u>Versuchsergebnisse in vivo und in vitro</u>	14
1. Vergleiche der MAO-Aktivitätswerte in den unter- suchten Organen von Ratten, die verschiedenen Versuchsbedingungen ausgesetzt waren, mit den entsprechenden Organen von Kontrolltieren	14
a) Einstündiger Sauerstoffmangel bei Normaldruck	14
b) Einstündiger Sauerstoffmangel bei Normaldruck mit nachfolgender einstündiger Erholung	16
c) Einstündige Gabe von 100 %igem Sauerstoff bei Normaldruck	18
d) 24-stündige Gabe von 100 %igem Sauerstoff bei Normaldruck	19
e) Einstündige Gabe von 100 %igem Sauerstoff bei 0,4 Atmosphärenüberdruck	20
f) Einstündige Gabe von 100 %igem Sauerstoff bei 100 mm Hg unter dem Normaldruck	22
g) Gabe von 100 mg Vitamin E/kg Rattengewicht i.m./d	24
h) 28-tägiger Vitamin-E-Mangel	25
2. Vergleiche der MAO-Aktivitäten in sieben Organen von fünf Ratten unter verschiedenen Versuchsbe- dingungen	26
a) Gehirn	26
b) Lunge	28
c) Herz	30
d) Leber	32
e) Niere	34
f) Milz	36
g) Hoden	38

III

	Seite
3. Übersicht aller in den in-vivo-Versuchen gefundenen MAO-Aktivitätswerte	40
4. In-vitro-Versuche	45
a) Sauerstoffdurchströmung von Hirnhomogenaten verschiedener Tierspezies während der Enzyminkubation	45
b) Vitamin-E-Zusatz zu Schweinehirnhomogenaten	47
IV. <u>Besprechung der Ergebnisse</u>	49
1. Zu Material und Methode	49
2. Zum akuten Sauerstoffmangel	49
3. Zum akuten Sauerstoffmangel mit anschließender Erholung	50
4. Zur Gabe reinen Sauerstoffs	51
5. Zum Sauerstoffüberschuß bei Überdruck	52
6. Zum Sauerstoffüberschuß bei Unterdruck	52
7. Zur Sauerstoffgabe in vitro	53
8. Zu den Vitamin-E-Versuchen	53
V. <u>Zusammenfassung</u>	55
VI. <u>Literaturverzeichnis</u>	57

I. Einleitung

Die Monoaminoxidase (MAO, E.C. 1.4.3.4.) ist ein Enzym, welches biogene Monoamine durch oxidative Desaminierung inaktiviert. Sie hat damit Einfluß auf den Stoffwechsel von Transmittersubstanzen. Ihre Aktivität in den verschiedenen Körperorganen ist unterschiedlich.

Dazu liegen bereits zahlreiche Untersuchungen vor. So berichteten LEMAY und BERLINGUET (30) über die Abhängigkeit der MAO vom Geschlecht. KOBAYASHI et al. (28), ZOLOVIC et al. (51), SALSEDUC et al. (40) sowie KAMBERI und KOBAYASHI (24) stellten außerdem fest, daß bei weiblichen Ratten die MAO-Aktivität vom Ovarialzyklus abhängt. In weiteren Arbeiten wurde über die Abhängigkeit der MAO-Aktivität vom Alter (PRANGE et al. (37) und SCHABER (41)), von der Spezies und dem untersuchten Gewebe (FIEKAS (15), NOVICK (34)), vom Substrat (NOVICK (34)), von manifesten Erkrankungen (FREICKMANN (17)) und von Steroidhormonen (SCHRÖDER (44) und KUHS (29)) berichtet.

Zwar ist bekannt, daß die MAO in den Mitochondrien lokalisiert ist (HOUSLAY und TIPTON (23), KIM und D'IORIO (27), NOVICK (34) sowie SULKIN und SULKIN (45)). HAWKINS (22) gab 1952 ein genaues Verteilungsverhältnis für die MAO in Leberzellen von Ratten an. Demnach ist sie zu zwei Dritteln in den Mitochondrien lokalisiert und zu einem Drittel in den Mikrosomen. Dieser Befund konnte von SCHNEIDER (42) auch für das Schweinehirn bestätigt werden. Gerade an den Mitochondrien wurden interessanterweise auch deutliche mikromorphologische Veränderungen nach Hypoxieversuchen festgestellt (BÜCHNER (5 - 8), HASPER (20), HAUSAMEN und POCHE (21) sowie MÖLBERT (32 - 33)). Da alle diese Befunde an Zellorganellen erhoben wurden, an denen die Atmungskette abläuft, war anzunehmen, daß die MAO-Aktivität infolge veränderter Sauerstoffangebote beeinflusst werden könnte. Untersuchungen über den Einfluß eines in vivo veränderten Sauerstoffangebotes auf die MAO wurden bisher aber nicht angestellt.

Morphologische Mitochondrienveränderungen wurden andererseits nicht nur nach Sauerstoffmangel festgestellt, sondern auch nach Vitamin-E-Mangel (SULKIN und SULKIN (46), VAN VLEET et al. (50)). Dabei ist zu beachten, daß Vitamin E antioxidierend wirkt!

Ausgehend von diesen Tatsachen sollten in der vorliegenden Arbeit der Einfluß verschiedener Sauerstoffbedingungen und die Wirkung von Vitamin-E-Überschuß sowie -mangel auf die Aktivität der MAO in verschiedenen Organen der Ratte untersucht werden.

II. Material und Methode

A. Untersuchungsgut

1. Tiermaterial

Die in-vivo-Untersuchungen wurden an männlichen Albino-Ratten vom Stamm Wistar AF/Han, bezogen vom Zentralinstitut für Versuchstierzucht in Hannover, durchgeführt. Das Durchschnittsgewicht der Ratten betrug $289 \text{ g} \pm 29 \text{ g}$. Pro Versuch wurden je fünf Tiere verwendet.

Für die in-vitro-Versuche wurden die Gehirne von Rind, Schwein, Meerschweinchen, Ratte und Tanzmaus verwendet. Das Material der Großtiere wurde vom hiesigen Schlachthof zur Verfügung gestellt. Dabei handelte es sich um "Deutsches Schwarzbuntes Niederungsvieh" und um "Veredelte Deutsche Landschweine". Die Meerschweinchen entstammten der eigenen Zucht der veterinärmedizinischen Abteilung der Behringwerke AG in Marburg. Die Ratten waren ebenfalls vom Stamm Wistar AF/Han (s.o.). Bei den Tanzmäusen handelte es sich um Tiere des Stammes Dancer, Farbe Wildtype. Sie wurden bezogen von The Jackson Laboratory, Bar. Harbor, Maine 04609, USA.

2. Untersuchungsmaterial

Für die Versuche wurden folgende Rattenorgane verwendet:

1. Gehirn
2. Lunge
3. Herz
4. Leber
5. Niere
6. Milz
7. Hoden

3. Gewinnung des Untersuchungsmaterials

Die Ratten wurden mit Äther narkotisiert und anschließend dekapitiert. Die Äthernarkose hat keinen Einfluß auf die MAO-Aktivität. Vergleichende

Untersuchungen von OEPEN (35) und SCHNEIDER (42) zeigten in Organen von Ratten, die mit Äther narkotisiert und dann getötet worden waren, dieselben Enzymaktivitätswerte wie bei Ratten, die durch Genickschlag betäubt und dann getötet worden waren. - Die Tiere wurden dann entblutet und die Organe herauspräpariert. Ehe die Organe homogenisiert wurden (s.u.), wurde das ihnen anhaftende Blut auf Fließpapier abgetupft. Diejenigen Ratten, die reinem Sauerstoff ausgesetzt waren, wurden nach Betäubung durch Genickschlag durch Durchtrennung der Halswirbelsäule getötet. Dadurch sollte vermieden werden, daß die Äthernarkose noch sekundär einen Sauerstoffmangel induziert.

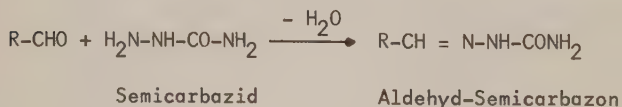
B. Methode

1. Prinzip der MAO-Bestimmung

Die MAO katalysiert die oxidative Desaminierung biogener Monoamine (BUDDEKE (5), GUGGENHEIM (19) und KARLSON (25)). Dabei wird ein instabiler Aldehyd freigesetzt (POPOV et al. (36)) nach der Gleichung:



Dieser instabile Aldehyd wird bei der Methode von POPOV und Mitarb. (36) an Semicarbazid gebunden. Dabei bildet sich ein stabiler Aldehyd-Semicarbazon-Komplex nach der Gleichung:



Dieser schwerlösliche Komplex kann im Spektralphotometer gemessen werden. Der Extinktionswert bei 235 nm gilt als Maß für die MAO-Aktivität, wenn Tyramin als Substrat verwendet wird.

Es wurde nach dieser einfachen Methode vorgegangen, die 1973 von SCHNEIDER (42) und SCHRÖDER (44) und 1974 von FIEKAS (15) und SCHABER (41) für hiesige Laborverhältnisse überprüft worden war.

2. Inkubationslösung

Die Inkubationslösung setzte sich wie folgt zusammen:

Na-Phosphatpuffer nach Sörensen (pH 7,8)
Semicarbazidhydrochlorid (50 μ Mol/ml)
eingestellt mit 10 %iger NaOH-Lösung auf pH 7,8
Tyramin (6 mMol/ml) gelöst in Aqua dest.

3. Arbeitsablauf

Auf Einzelheiten über Gewinnung und Aufbereitung des Organmaterials sowie der Aktivitätsbestimmung wird hier nicht mehr eingegangen. Diese sind sowohl durch die Arbeit von POPOV und Mitarb. (36) als auch durch Untersuchungsergebnisse und diverse Dissertationen aus dem hiesigen Labor hinreichend bekannt (OEPEN (35) und SCHNEIDER (42)).

C. Verwendete Reinsubstanzen und Gase

1. Feinchemikalien für die Inkubationslösung

Di-Natriumhydrogenphosphat (Merck Art. 6580)
Kalium-di-hydrogenphosphat (Merck Art. 4873)
Semicarbazidhydrochlorid (Merck Art. 7722)
Tyramin (Fluka Nr. 93810)
Perchlorsäure (Merck Art. 518)
Sucroselösung

2. Vitamin E

Ephynal^R, Vitamin-E-Acetat als kolloidale wässrige Lösung
(Hoffmann-La Roche AG, Grenzach)

Alle Chemikalien wurden im Kühlschrank bei ca. +4°C aufbewahrt.

3. Sauerstoff und Stickstoff

Sauerstoff, reinst, O₂ 99,9 Vol.-%
Stickstoff, reinst, N₂ 99,99 Vol.-%
(Messer-Griesheim AG)

D. Arbeitsbedingungen

1. Tageszeitlicher Arbeitsrhythmus

Alle Ratten wurden mittags um 12.00 Uhr getötet, um eine evtl. Beeinflussung der MAO-Aktivität durch den Tagesrhythmus der Tiere zu vermeiden (AKINDELE et al. (1) 1970). Die Organe wurden immer unmittelbar nach dem Töten entnommen, mit einer Schere grob zerkleinert, im Glashomogenisator mit Glas- bzw. Teflonstempel nach Potter-Elvehjem homogenisiert und 20 Minuten im Wasserbad bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde das Enzym durch Zugabe von Perchlorsäure inaktiviert. Dann wurden die Homogenate für 15 Minuten bei +4°C und 100.000 x g zentrifugiert und die Enzymaktivität danach im Überstand photometrisch (s.o.) gemessen. Pro Ratte wurden an einem Tag zwei Enzymbestimmungen im Abstand von 10 Minuten durchgeführt, die pro Organ zusammen zehn Meßwerte ergaben. Aus allen Einzelwerten eines Organs wurden dann der arithmetische Mittelwert und die Standardabweichung errechnet.

Um eine mögliche Beeinträchtigung der MAO-Aktivität durch längere Lagerung des Untersuchungsmaterials zu vermeiden, wurden die Untersuchungen immer unmittelbar nach dem Töten der Ratten durchgeführt (FREICKMANN (17) 1974).

2. Vorbehandlung der Versuchstiere

Alle Ratten mit Ausnahme der in den Vitamin-E-Mangel-Versuchen erhielten die Standarddiät Altromin R (Fa. Altrogge, Lage/Lippe) und Leitungswasser ad libitum.

Bei den Vitamin-E-Mangel-Versuchen wurde 28 Tage lang eine Diät aus Steckrüben (*Brassica napus*) und Edamer Käse mit 30 % Fett i.T. verabreicht. Laut Angabe der Wissenschaftlichen Tabellen der Fa. Geigy (DOCUMENTA GEIGY (13)) enthalten diese Nahrungsmittel kein Vitamin E. Zusätzlich erhielten die Ratten Leitungswasser ad libitum.

Bei den Vitamin-E-Gabe-Versuchen bekamen die Ratten zehn Tage vor dem Töten täglich eine einmalige Dosis von 100 mg Vitamin-E-Acetat pro kg Körpergewicht i.m. verabreicht.

Diejenigen Ratten, die einem Sauerstoffmangel bzw. -Überschuß ausgesetzt werden sollten, wurden jeweils eine Stunde bzw. 24 Stunden vor dem Töten in der entsprechenden Atmosphäre gehalten.

3. Laborbedingungen während der Versuchsdurchführung

Die Ratten wurden in Makrolon-Käfigen von 42 cm Länge, 26 cm Breite und 15 cm Höhe gehalten. Alle Versuche wurden bei Tageslicht und einer durchschnittlichen Raumtemperatur von 20°C durchgeführt.

E. Versuchsdurchführung

1. Kontrollversuche

Bevor Untersuchungen über die MAO-Aktivität in Rattenorganen unter verschiedenen Versuchsbedingungen angestellt werden konnten, wurde zunächst die MAO-Aktivität in Organen unbeeinflusster Ratten bestimmt. Die dabei photometrisch ermittelten MAO-Aktivitätswerte in den sieben untersuchten Rattenorganen stellten die Kontrollwerte, im folgenden "Kontrolle" genannt, dar. Mit Hilfe dieser Kontrollwerte konnte später für jedes Organ festgestellt werden, ob unter den jeweils gegebenen Versuchsbedingungen die MAO-Aktivität erhöht, vermindert oder gleich geblieben war.

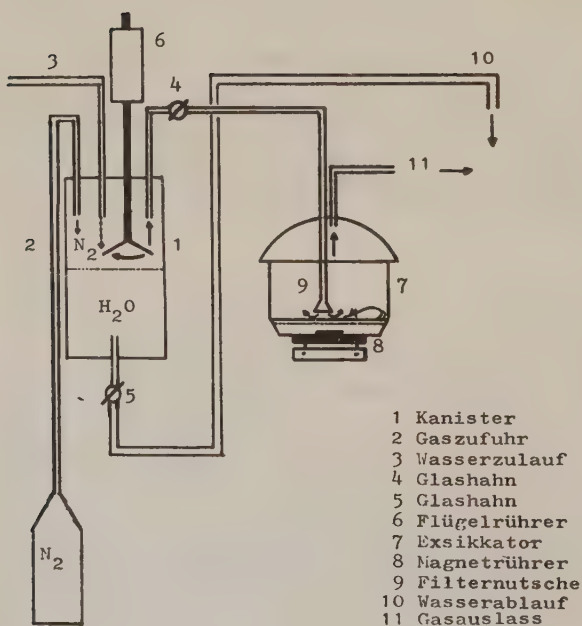
2. Sauerstoffversuche

a) Einstündiger Sauerstoffmangel bei Normaldruck

Der in Abb. 1 gezeigte kalibrierte Kanister 1 wurde mit Wasser gefüllt. Anschließend wurde so viel Wasser abgelassen, bis er etwa 10 % Luft und 90 % Wasser enthielt. Die verbleibende Wassermenge wurde über die Gaszufuhr 2 von reinem Stickstoff herausgedrückt. Schließlich befand sich im Kanister ein Gasgemisch von ca. 97 % Stickstoff und ca. 3 % Sauerstoff. Nach BRAASCH (4) verträgt die Ratte ein Sauerstoff-Stickstoffgemisch von 5 % über eine Stunde noch gut. Die gute Durchmischung beider Gase gewährleistete ein Flügelrührer 6. Um die Ratten dieser Atmosphäre aussetzen zu können, wurden sie in einen Exsikkator 7 gesetzt, der auf einem Magnetrührer 8 stand. Im unteren Teil des Exsikkators wurde Wasser durch den Rührer

aufgewirbelt, um für eine einigermaßen gute Luftfeuchtigkeit zu sorgen. Das Gasgemisch strömte über eine Filternutsche (G 3) 9 in den Exsikkator ein und konnte oben am Deckel durch den Gasauslaß 11 wieder entweichen. Um das Gasgemisch in den Exsikkator fließen zu lassen, wurden zuvor der Glashahn 4 und der Wasserzulauf 3 geöffnet. Die Ratten wurden eine Stunde lang in dieser Atmosphäre gehalten.

Abb. 1: Versuchsanordnung für Sauerstoffversuche
(Nähere Erläuterungen im Text)

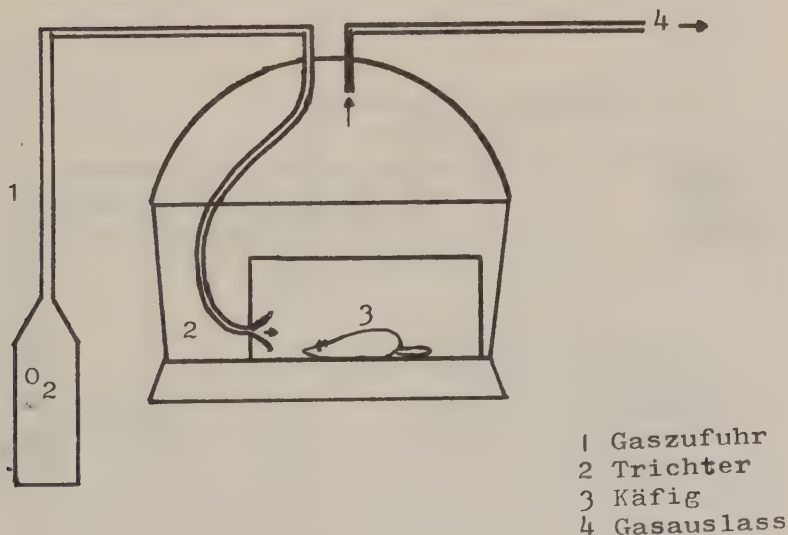


b) 1- und 24-stündiger Sauerstoffüberschuß bei Normaldruck

Um die MAO-Aktivität nach der Gabe reinen Sauerstoffs untersuchen zu können, wurden die Ratten eine Stunde lang in ihrem Käfig in den in Abb. 2 gezeigten Exsikkator gesetzt. Durch den Trichter 2 wurde der Sauerstoff aus der Gasflasche 1 in Bodenhöhe in den Käfig 3 geleitet. Durch die Auslaßöffnung 4 im Exsikkatordeckel konnte der überschüssige Sauerstoff wieder entweichen.

In dieser Versuchsanordnung mußten insgesamt fünf Ratten je eine Stunde und fünf weitere Ratten je 24 Stunden lang 100 %igen Sauerstoff einatmen.

Abb. 2: Sauerstoff-Durchströmungskammer
(Nähere Erläuterungen im Text)

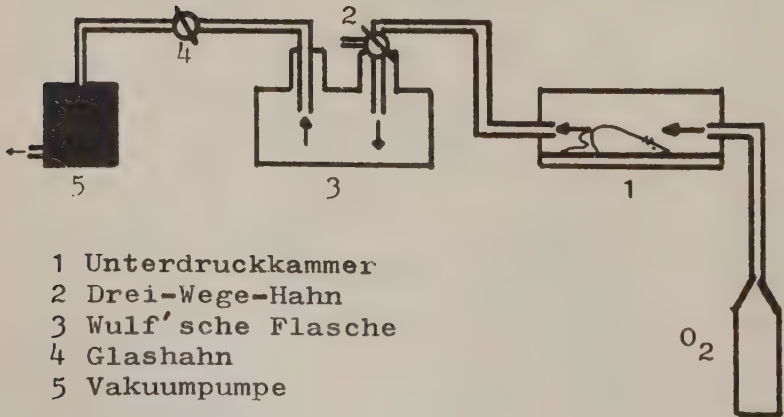


c) Einstündige Gabe reinen Sauerstoffs bei Unterdruck

Hierbei wurden die Ratten in einer Unterdruckkammer 1 von 3,3 l Rauminhalt eine Stunde lang reinem Sauerstoff und einem Druck von 100 mm Hg unter dem örtlichen Normaldruck ausgesetzt (s. Abb. 3). Der örtliche Normaldruck lag während dieser Versuche bei durchschnittlich $781 \text{ mm Hg} \pm 6 \text{ mm Hg}$. Die Unterdruckkammer war mit einer Wulf'schen Flasche 3 über einen Drei-Wege-Hahn 2 verbunden. Mit der Vakuumpumpe 5 wurde der Unterdruck konstant gehalten und über den Glashahn 4 feinreguliert. Der Druck im System wurde mittels eines Manometers, der in der Unterdruckkammer installiert war, kontrolliert. Mit Hilfe des Drei-Wege-Hahnes wurde bei Versuchsende der Druckausgleich in der Kammer vorgenommen.

Abb. 3: Unterdrucksystem

(Nähere Erläuterungen im Text)



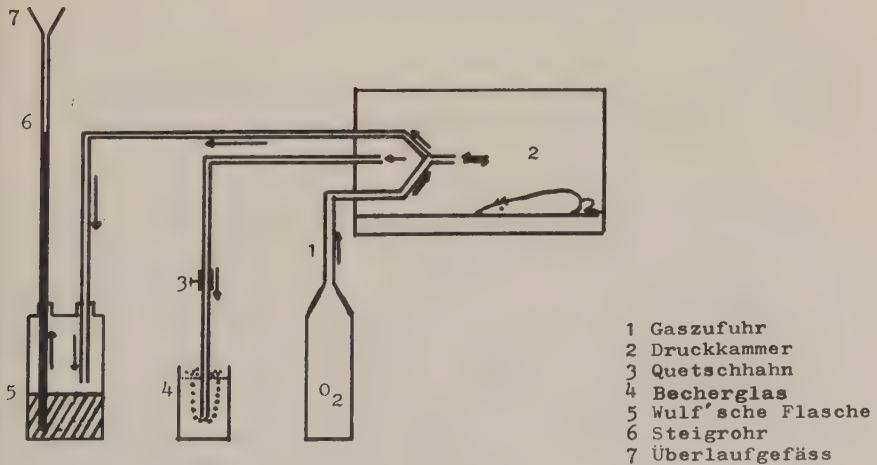
- 1 Unterdruckkammer
- 2 Drei-Wege-Hahn
- 3 Wulf'sche Flasche
- 4 Glashahn
- 5 Vakuumpumpe

d) Einstündige Gabe reinen Sauerstoffs bei Überdruck

In dem in Abb. 4 dargestellten System saßen die Ratten in einer Überdruckkammer 2. Der Sauerstoff strömte aus einer Gasflasche 1 durch die Überdruckkammer in eine Wulf'sche Flasche 5, die zu einem Drittel mit gefärbtem Wasser angefüllt war. Der Druck in der Kammer breitete sich auch auf die Flüssigkeit in der Flasche aus und drückte sie im Steigrohr hoch. Mit Hilfe des Quetschhahnes 3 konnte die Höhe der Wassersäule dosiert und damit der gewünschte Überdruck aufrechterhalten werden. Über diesen Hahn erfolgte bei Versuchsende auch der Druckausgleich. In dem Becherglas 4 wurde der Sauerstoffstrom kontrolliert. In diesem geschlossenen System waren die Ratten eine Stunde lang einem Druck von 0,4 Atmosphärenüberdruck ausgesetzt.

Abb. 4: Überdrucksystem

(Nähere Erläuterungen im Text)



2. Vitamin-E-Versuche

a) Zehntägige Gabe von 100 mg Vitamin E/kg Rattengewicht i.m. pro die

Die Ratten erhielten jeweils zehn Tage lang 0,5 ml Ephynal^R abwechselnd in den rechten oder linken hinteren Oberschenkel injiziert. In diesen 0,5 ml Ephynal^R waren 25 mg Vitamin-E-Acetat enthalten, entsprechend einer Dosis von 100 mg Vitamin-E-Acetat pro kg Rattengewicht. 24 Stunden nach der letzten Vitamin-E-Injektion wurden die Tiere getötet.

b) 28-tägiger Vitamin-E-Mangel

Vier Wochen lang erhielten die Tiere eine Diät aus Steckrüben (*Brassica napus*) und Edamer Käse mit 30 % Fett i.T. ad libitum. Diese Nahrungsmittel sollen kein Vitamin E enthalten (DOCUMENTA GEIGY (13) s.o.). Zusätzlich wurde Leitungswasser ad libitum gegeben. Am 29. Tag wurden die Ratten getötet.

F. In-vitro-Versuche

1. Sauerstoffdurchströmung von Hirnhomogenaten verschiedener Tier- spezies während der Enzyminkubation

Neben Versuchen, in denen den Ratten in vivo 100 %iger Sauerstoff zugeführt wurde, wurden auch in-vitro-Versuche mit 100 %igem Sauerstoff an Hirnhomogenaten verschiedener Tierspezies durchgeführt.

Dazu wurden von den Großtieren Rind und Schwein jeweils eine ganze Hirnhämispäre, von den kleinen Nagern Ratte, Tanzmaus und Meerschweinchen jeweils fünf ganze Gehirne homogenisiert. Die Enzymbestimmung erfolgte wie in den in-vivo-Versuchen nach der Methode von POPOV und Mitarb. (36). Pro Hirnhomogenat wurden sechs Reagenzgläser mit Substrat-Homogenat-Mischung für 20 Minuten bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Solange die Reagenzgläser im Inkubationsbad standen, wurde in jedes gleichzeitig 100 %iger Sauerstoff (= eine Gasperle pro Sekunde) geleitet. Zugleich wurde eine entsprechende Anzahl von Kontroll-Homogenaten inkubiert, in die jedoch kein Sauerstoff geleitet wurde. In Abb. 15 wurden die Ergebnisse zusammengefaßt.

2. Vitamin-E-Zusatz zu Schweinehirn-Homogenaten

Parallel zu den in-vivo-Versuchen an Ratten wurde in vitro die Wirkung von Vitamin E auf die MAO im Schweinehirn-Homogenat untersucht. Dazu wurden 13 Reagenzgläser mit Homogenat-Substrat-Mischung für 20 Minuten bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Zuvor war jeder Substrat-Homogenat-Mischung eine bestimmte Menge Ephynal^R zugesetzt worden. Die Vitamindosen wurden von 0,02 ml auf 0,26 ml Ephynal^R in Abstufungen von je 0,02 ml gesteigert, entsprechend einer Dosissteigerung von 1 mg bis 13 mg Vitamin E.

Bei den zugehörigen Kontrollen war den Homogenaten anstelle von Vitamin E die entsprechende Flüssigkeitsmenge 0,5 M Sucroselösung zugesetzt worden. Diese Kontrollen wurden auch 20 Minuten bei 37°C inkubiert. Die Bestimmung der Enzymaktivität erfolgte wie bei allen vorangegangenen Versuchen nach der POPOV'schen Methode. Abb. 23 (S. 47) stellt die Ergebnisse im Diagramm dar.

III. Versuchsergebnisse in vivo und in vitro

1. Vergleiche der MAO-Aktivitätswerte in den untersuchten Organen von Ratten, die verschiedenen Versuchsbedingungen ausgesetzt waren, mit entsprechenden Organen von Kontrolltieren

In den folgenden acht Diagrammen (Abb. 5 - 12) wurden die MAO-Aktivitätswerte in sieben Organen je fünf männlicher Ratten, die verschiedenen Versuchsbedingungen ausgesetzt waren (= Versuchstiere), verglichen mit den MAO-Aktivitätswerten in den entsprechenden Organen fünf unbeeinflusster männlicher Ratten (= Kontrolltiere). Dazu wurde für jeden Versuch pro Organ ein Säulendiagramm angefertigt. Dabei entspricht die Höhe der Säulen dem jeweiligen photometrisch ermittelten Extinktionswert bei 235 nm. Wenn im folgenden von Senkung oder Steigerung der MAO-Aktivität gesprochen wurde, galt als Bezugswert immer der MAO-Aktivitätswert der unbeeinflussten Kontrolle.

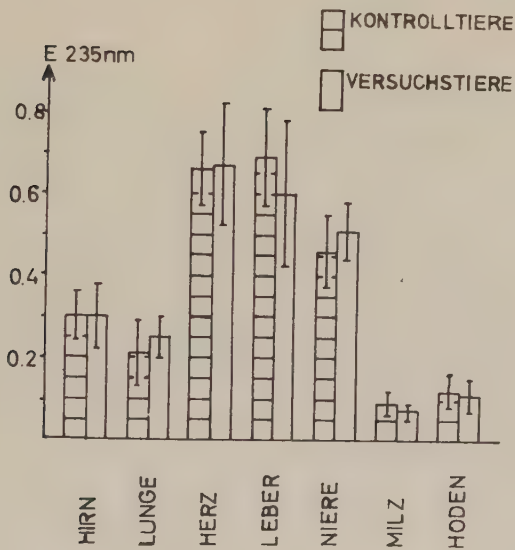
a) Einstündiger Sauerstoffmangel bei Normaldruck

Unter den hier gegebenen Versuchsbedingungen wurden an den Ratten folgende Beobachtungen gemacht: Die Ratten beschnupperten zunächst die für sie ungewohnte Umgebung. Sie liefen im Exsikkator umher und spielten mit der vom Deckel herabhängenden Nutsche. Die anfangs noch normal lebhaften Bewegungen ließen nach einigen (3 - 5) Minuten nach. Die Tiere saßen am Boden, machten einen Buckel und atmeten heftig, wobei sie den Kopf weit vorstreckten. Das Atmen verstärkte sich dann allmählich zu einem "Pumpen", und die Ratten saßen angespannt da. Ab und zu versuchten sie wieder im Exsikkator herumzulaufen und mit der Nutsche zu spielen. Dies schien sie jedoch anzustrengen, und sie nahmen wieder ihre alte Haltung ein. Dabei atmeten sie sehr heftig. Nach ca. 45 - 50 Minuten lagen die Tiere am Boden, wobei sie die hinteren Extremitäten abspreizten. Hin und wieder versuchten sie sich noch fortzubewegen. Dabei zogen sie die hinteren Extremitäten wie gelähmt nach. Jetzt war auch häufig eine leichte Schnappatmung erkennbar. Die Augen waren dunkelrot verfärbt.

Trotz dieses deutlich veränderten Verhaltens der Ratten war nach Auswertung dieses Versuches in keinem der untersuchten Organe eine stärkere Beeinflussung der MAO-Aktivität infolge Sauerstoffmangels festzustellen.

Geringere Unterschiede zwischen den Versuchs- und Kontrolltieren zeigten sich zwar in Lunge, Leber und Niere. Diese Unterschiede waren aber zu gering, um statistisch abgesichert werden zu können.

Abb. 5: MAO-Aktivität in sieben Organen von fünf Ratten nach einstündigem Sauerstoffmangel bei Normaldruck



Ordinate: Extinktion bei 235 nm

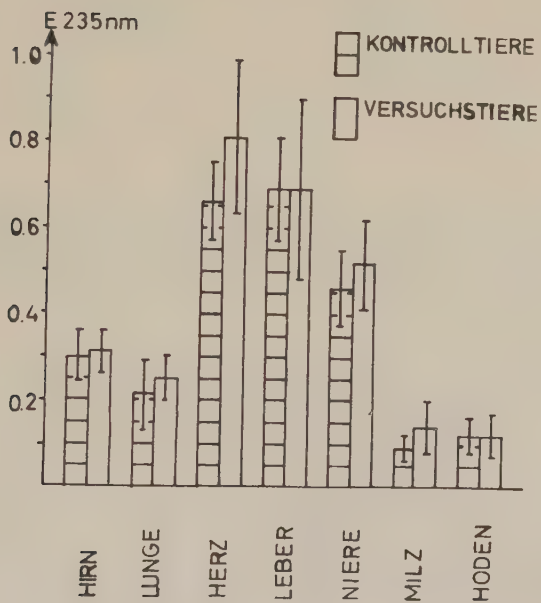
Abszisse: Untersuchte Rattenorgane

b) Einstündiger Sauerstoffmangel bei Normaldruck mit nachfolgender einstündiger Erholung

In dieser Versuchsreihe zeigten die Ratten wie in der vorangegangenen Versuchsreihe (einstündiger Sauerstoffmangel bei Normaldruck) während des Aufenthaltes im Exsikkator dasselbe Verhalten. Nachdem sie eine Stunde in dieser Atmosphäre zugebracht hatten, wurden sie wieder in ihren Makrolon-Käfig zurückgesetzt. Bis zum Töten sollten sie sich für eine Stunde in ihrer gewohnten Umgebung unter normalen atmosphärischen Bedingungen erholen. Anfangs waren sie zwar noch etwas schlapp. Nach fünf bis zehn Minuten hatten sie sich aber schon wieder so weit erholt, daß sie subjektiv in ihrem Verhalten nicht mehr von ihren unbehandelten Artgenossen zu unterscheiden waren.

Von den sieben untersuchten Organen zeigte nur das Herz eine erhöhte MAO-Aktivität. Sie war gegenüber der MAO-Aktivität der unbeeinflussten Kontrolle um den Faktor 1,2 erhöht. Die Milz zeigte eine Tendenz zu erhöhter MAO-Aktivität. Dies war jedoch nicht als statistisch beweisbare Aktivitätssteigerung anzusehen. Die übrigen fünf Organe zeigten unter den gegebenen Versuchsbedingungen praktisch keine Veränderung ihrer MAO-Aktivität. Hirn, Leber und Hoden zeigten praktisch dieselbe MAO-Aktivität wie bei den Kontrollen. Lunge, Niere und Milz dagegen zeigten geringe Unterschiede der MAO-Aktivität zwischen Kontroll- und Versuchstieren. Diese Unterschiede waren aber zu gering, um statistisch abgesichert werden zu können (s. Abb. 6).

Abb. 6: MAO-Aktivität in sieben Organen von fünf Ratten nach einstündigem Sauerstoffmangel bei Normaldruck mit anschließender einstündiger Erholung



Ordinate: Extinktion bei 235 nm

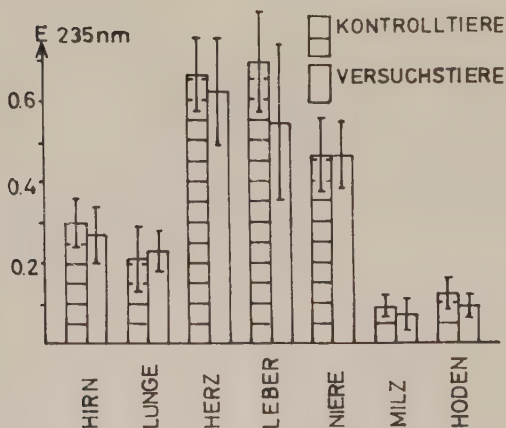
Abszisse: Untersuchte Rattenorgane

c) Einstündige Gabe von 100 %igem Sauerstoff bei Normaldruck

Bei dieser Versuchsreihe verhielten sich die Ratten völlig normal.

Unter den gegebenen Versuchsbedingungen wurde in keinem der untersuchten Rattenorgane die MAO-Aktivität wesentlich verändert. Die Leber zeigte gegenüber der Kontrolle die Tendenz zur Senkung der MAO-Aktivität. Dieser Wert lag aber noch innerhalb der Fehlerbreite. Die MAO-Aktivität in Hirn, Lunge, Herz, Niere, Milz und Hoden durfte als praktisch gleich angesehen werden.

Abb. 7: MAO-Aktivität in sieben Organen von fünf Ratten nach einstündiger Gabe von 100 %igem Sauerstoff bei Normaldruck



Ordinate: Extinktion bei 235 nm

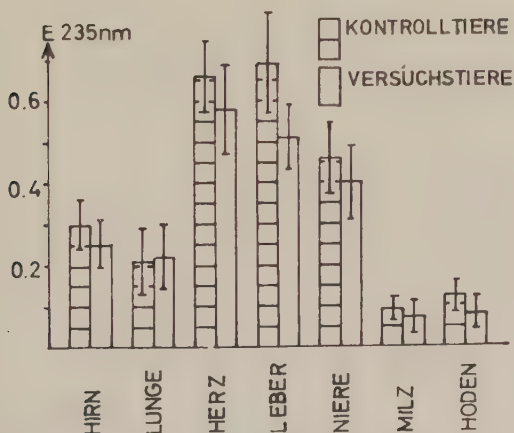
Abszisse: Untersuchte Rattenorgane

d) 24-stündige Gabe von 100 %igem Sauerstoff bei Normaldruck

Während dieser Versuchsreihe verhielten sich die Ratten völlig normal.

Unter den gegebenen Versuchsbedingungen war bei keinem der untersuchten Rattenorgane eine starke Veränderung der MAO-Aktivität gegenüber den entsprechenden Kontrollwerten zu verzeichnen, obwohl in Gehirn, Herz, Niere, Milz und Hoden der Versuchstiere die Enzymaktivität erniedrigt zu sein schien. Diese Werte lagen aber noch innerhalb der Fehlerbreite. Lediglich in der Leber wurde unter diesen Versuchsbedingungen die MAO-Aktivität gegenüber dem Kontrollwert um den Faktor 0,74 gesenkt.

Abb. 8: MAO-Aktivität in sieben Organen von fünf Ratten nach 24-stündiger Gabe von 100 %igem Sauerstoff bei Normaldruck



Ordinate: Extinktion bei 235 nm

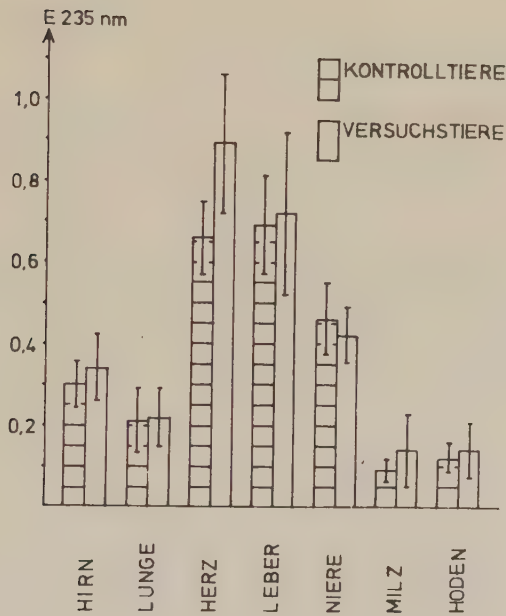
Abszisse: Untersuchte Rattenorgane

e) Einstündige Gabe von 100 %igem Sauerstoff bei 0,4 Atmosphären-
Überdruck

Bei diesem Versuch zeigten die Ratten in der Überdruckkammer kein auffälliges Verhalten. Nachdem sie sich an die etwas enge Kammer gewöhnt hatten, rollten sie sich zusammen und schliefen meist für den Rest des Versuches.

Die MAO-Aktivität wurde unter den gegebenen Versuchsbedingungen am Herzen gegenüber der Kontrolle um den Faktor 1,35 erhöht. Die anderen untersuchten Organe zeigten keine starken Veränderungen unter diesen Versuchsbedingungen. Zwar war die MAO-Aktivität im Vergleich zu den entsprechenden Kontrollen in Hirn, Leber, Milz und Hoden geringfügig erhöht, in der Niere hingegen geringfügig gesenkt. Diese Veränderungen lagen jedoch innerhalb der Fehlerbreite und waren statistisch nicht abzusichern. In der Lunge entsprach die MAO-Aktivität der untersuchten Tiere praktisch der der Kontrolltiere (s. Abb. 9).

Abb. 9: MAO-Aktivität in sieben Organen von fünf Ratten nach ein-
stündiger Gabe von 100 %igem Sauerstoff bei 0,4 Atmosphären-
überdruck



Ordinate: Extinktion bei 235 nm

Abszisse: Untersuchte Rattenorgane

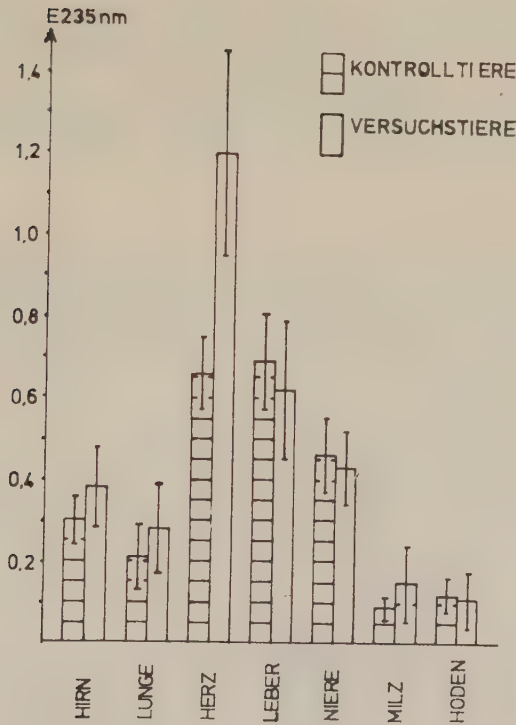
f) Einstündige Gabe von 100 %igem Sauerstoff bei 100 mm Hg unter dem Normaldruck

Die Ratten zeigten während des Aufenthaltes in der Unterdruckkammer kein auffälliges Verhalten.

Während dieser Versuchsreihe betrug der durchschnittliche Atmosphärendruck im Labor (185 m Ü.N.N.) $781 \text{ mm Hg} \pm 6 \text{ mm Hg}$.

Von den sieben untersuchten Organen zeigte das Herz unter diesen Versuchsbedingungen eine deutliche Steigerung der MAO-Aktivität gegenüber der Kontrolle um den Faktor 1,82. Die MAO-Aktivität der übrigen untersuchten Organe blieb dagegen praktisch unbeeinflusst. In Hirn, Lunge und Milz war die MAO-Aktivität geringfügig erhöht. Dagegen war sie in Leber, Niere und Hoden geringfügig gesenkt. Diese MAO-Aktivitätswerte konnten aber statistisch nicht als Veränderungen abgesichert werden, denn sie lagen alle im Bereich der Fehlerbreite (s. Abb. 10).

Abb. 10: MAO-Aktivität in sieben Organen von fünf Ratten nach ein-
stündiger Gabe von 100 %igem Sauerstoff bei 100 mm Hg unter
dem Normaldruck



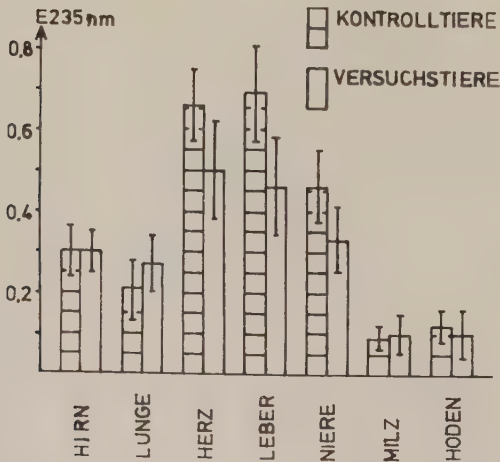
Ordinate: Extinktion bei 235 nm

Abszisse: Untersuchte Rattenorgane

g) Gabe von 100 mg Vitamin E/kg Rattengewicht i.m./d

Unter den gegebenen Versuchsbedingungen wurde die MAO-Aktivität gegenüber den entsprechenden Kontrollen im Herzen um den Faktor 0,76, in der Leber um den Faktor 0,67 und in der Niere um den Faktor 0,72 gesenkt. In den übrigen untersuchten Organen blieb die MAO-Aktivität dagegen weitgehend unbeeinflusst. Im Hirn stimmte sie mit dem entsprechenden Kontrollwert überein. In Lunge und Milz war sie gegenüber den entsprechenden Kontrollen geringfügig erhöht, im Hoden dagegen schwach gesenkt. Diese Veränderungen lagen jedoch im Bereich der Fehlerbreite. Daher waren sie statistisch nicht abzusichern.

Abb. 11: MAO-Aktivität in sieben Organen von fünf Ratten nach zehntägiger Gabe von 100 mg Vitamin E/kg Rattengewicht i.m./d



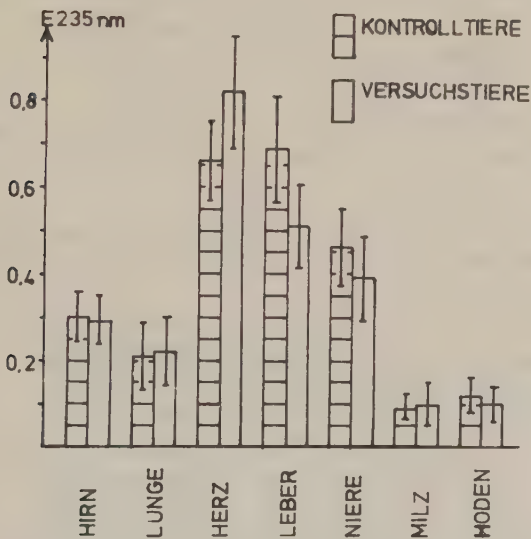
Ordinate: Extinktion bei 235 nm

Abszisse: Untersuchte Rattenorgane

h) 28-tägiger Vitamin-E-Mangel

Vitamin-E-Mangel bewirkte am Herzen gegenüber der Kontrolle eine deutliche Steigerung der MAO-Aktivität um den Faktor 1,22. In der Leber bewirkte der Vitamin-E-Mangel dagegen eine Senkung der MAO-Aktivität um den Faktor 0,74. Die Niere zeigte eine Tendenz zur Senkung der MAO-Aktivität. Statistisch war hier aber keine Aktivitätserniedrigung gegenüber dem Kontrollwert nachweisbar. Die übrigen untersuchten Organe zeigten unter den gegebenen Versuchsbedingungen praktisch keine Veränderung ihrer MAO-Aktivität.

Abb. 12: MAO-Aktivität in sieben Organen von fünf Ratten nach 28-tägigem Vitamin-E-Mangel



Ordinate: Extinktion bei 235 nm

Abszisse: Untersuchte Rattenorgane

2. Vergleiche der MAO-Aktivitäten in sieben Organen von fünf Ratten unter verschiedenen Versuchsbedingungen

Im folgenden Abschnitt wurden die MAO-Aktivitätswerte pro Organ aus allen Versuchen der Reihe nach in Säulendiagrammen (Abb. 13 - 19) mit den entsprechenden Kontrollwerten verglichen.

a) Gehirn

Wie Abb. 13 zu entnehmen ist, wurde unter den verschiedenen Versuchsbedingungen die MAO-Aktivität des Rattengehirns im Vergleich zu Gehirnen entsprechender Kontrolltiere nicht verändert.

Die MAO-Aktivitätswerte aus Versuch 2 (1^h O_2 -Mangel bei Normaldruck) und Versuch 6 (Vitamin-E-Gabe) entsprachen dem Kontrollwert.

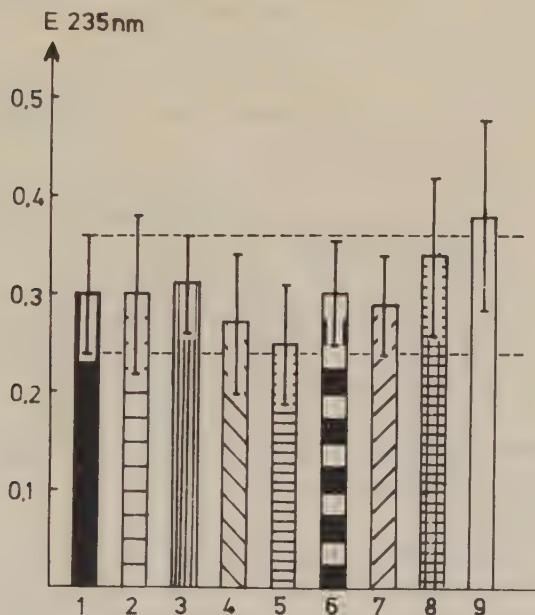
Geringste Abweichungen vom Kontrollwert waren im Versuch 3 (1^h O_2 -Mangel bei Normaldruck + 1^h Erholung) nach oben und im Versuch 7 (Vitamin-E-Mangel) nach unten zu verzeichnen.

Mittlere Abweichungen bestanden im Versuch 4 (1^h O_2 bei Normaldruck) nach unten und im Versuch 8 (1^h 100 %iger O_2 bei Überdruck) nach oben.

Die höchsten Abweichungen waren im Versuch 5 (24^h 100 %iger O_2 bei Normaldruck) nach unten und im Versuch 9 (1^h 100 %iger O_2 bei Unterdruck) nach oben zu verzeichnen.

Alle diese Abweichungen lagen aber im Bereich der Fehlerbreite. Statistisch waren sie nicht abzusichern (s. Abb. 13).

Abb. 13: MAO-Aktivitäten im Gehirn von männlichen Ratten ($n = 5$)
unter den verschiedenen Versuchsbedingungen



Ordinate: Extinktion bei 235 nm

Abszisse: Versuchsbedingungen

- 1 = Kontrollen
- 2 = 1^h O₂-Mangel bei Normaldruck
- 3 = 1^h O₂-Mangel bei Normaldruck + 1^h Erholung
- 4 = 1^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck
- 5 = 24^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck
- 6 = Vitamin-E-Gabe, 10 Tg. lang 100 mg/kg i.m./d
- 7 = Vitamin-E-Mangel, 28 Tage lang
- 8 = 1^h 100 %iger O₂ bei 0,4 Atmosphärenüberdruck
- 9 = 1^h 100 %iger O₂ bei 100 mm Hg unter dem Normaldruck

b) Lunge

Im Vergleich zu den Kontrollen zeigte die Rattenlunge unter den gegebenen Versuchsbedingungen keine auffallenden Veränderungen ihrer MAO-Aktivität.

Geringste Abweichungen vom Kontrollwert wurden in den Versuchen 5 (24^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck), 7 (Vitamin-E-Mangel) und 8 (1^h 100 %iger O₂ bei Überdruck) nach oben verzeichnet.

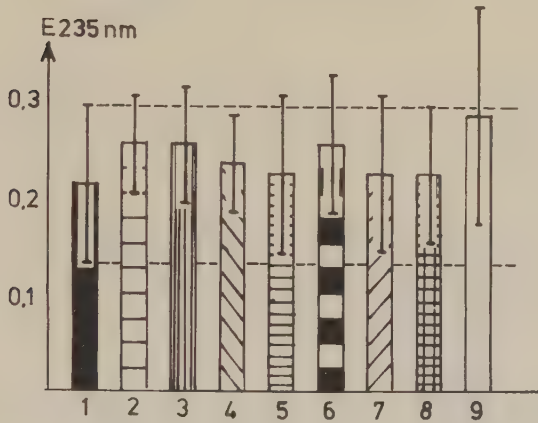
Eine mittlere Abweichung vom Kontrollwert nach oben bestand im Versuch 4 (1^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck).

Höhere Abweichungen vom Kontrollwert nach oben ergaben die Bedingungen der Versuche 2 (1^h O₂-Mangel bei Normaldruck), 3 (1^h O₂-Mangel bei Normaldruck + 1^h Erholung) und 6 (Vitamin-E-Gabe).

Die höchste Abweichung vom Kontrollwert nach oben wurde nach Versuch 9 (1^h 100 %iger O₂ bei Unterdruck) erzielt.

Alle diese MAO-Aktivitätswerte lagen im Bereich der Fehlerbreite und waren deshalb statistisch nicht abzusichern (s. Abb. 14).

Abb. 14: MAO-Aktivitäten in der Lunge von männlichen Ratten (n = 5)
unter den verschiedenen Versuchsbedingungen



Ordinate: Extinktion bei 235 nm

Abszisse: Versuchsbedingungen

- 1 = Kontrollen
- 2 = 1^h O₂-Mangel bei Normaldruck
- 3 = 1^h O₂-Mangel bei Normaldruck + 1^h Erholung
- 4 = 1^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck
- 5 = 24^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck
- 6 = Vitamin-E-Gabe, 10 Tage lang 100 mg/kg i.m./d
- 7 = Vitamin-E-Mangel, 28 Tage lang
- 8 = 1^h 100 %iger O₂ bei 0,4 Atmosphärenüberdruck
- 9 = 1^h 100 %iger O₂ bei 100 mm Hg unter dem Normaldruck

c) Herz

Im Vergleich zu den Kontrollen waren am Herzen unter den verschiedenen Versuchsbedingungen am häufigsten Veränderungen der MAO-Aktivität aufgetreten. Eine Stunde reiner Sauerstoff bei Unterdruck (Versuch 9) bewirkte eine MAO-Aktivitätssteigerung um den Faktor 1,82.

Eine Stunde reiner Sauerstoff bei Überdruck (Versuch 8) bewirkte eine Steigerung der MAO-Aktivität um den Faktor 1,35. Vitamin-E-Mangel (Versuch 7) bewirkte eine Steigerung der MAO-Aktivität um den Faktor 1,24.

Einstündiger Sauerstoffmangel bei Normaldruck mit anschließender einstündiger Erholung (Versuch 3) bewirkte noch eine Steigerung um den Faktor 1,22. Dagegen bewirkte die Vitamin-E-Gabe (Versuch 6) eine Senkung der MAO-Aktivität um den Faktor 0,76.

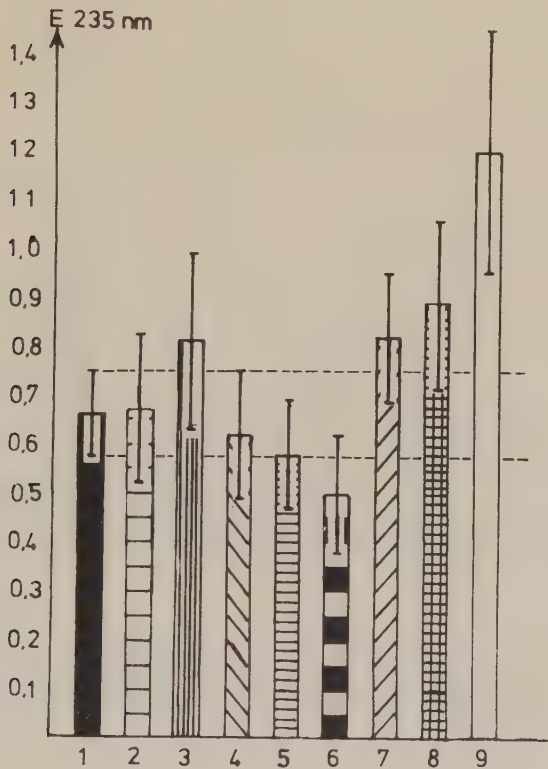
Unter den Ubrigen drei Versuchen war der Wert der MAO-Aktivität im Versuch 2 (1^h O₂-Mangel bei Normaldruck) praktisch gleich dem Kontrollwert.

Eine geringe Abweichung der MAO-Aktivität nach unten bestand im Versuch 4 (1^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck).

Eine etwas stärkere Abweichung ebenfalls nach unten bestand im Versuch 5 (24^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck).

Beide Werte waren aber statistisch nicht erfaßbar, weil sie noch im Bereich der Fehlerbreite lagen (s. Abb. 15).

Abb. 15: MAO-Aktivitäten im Herzen von männlichen Ratten ($n = 5$) unter den verschiedenen Versuchsbedingungen



Ordinate: Extinktion bei 235 nm

Abszisse: Versuchsbedingungen

- 1 = Kontrollen
- 2 = 1^h O₂-Mangel bei Normaldruck
- 3 = 1^h O₂-Mangel bei Normaldruck + 1^h Erholung
- 4 = 1^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck
- 5 = 24^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck
- 6 = Vitamin-E-Gabe, 10 Tage lang 100 mg/kg i.m./d
- 7 = Vitamin-E-Mangel, 28 Tage lang
- 8 = 1^h 100 %iger O₂ bei 0,4 Atmosphärenüberdruck
- 9 = 1^h 100 %iger O₂ bei 100 mm Hg unter dem Normaldruck

d) Leber

In der Leber bewirkte die Vitamin-E-Gabe (Versuch 6) eine Senkung der MAO-Aktivität gegenüber der Kontrolle um den Faktor 0,67.

24-stündiger Sauerstoffmangel bei Normaldruck (Versuch 5) und Vitamin-E-Mangel (Versuch 7) bewirkten gegenüber dem Kontrollwert jeweils eine Senkung der MAO-Aktivität um den Faktor 0,74.

Die MAO-Aktivität im Versuch 3 (1^h O₂-Mangel bei Normaldruck) stimmte mit dem Kontrollwert Überein.

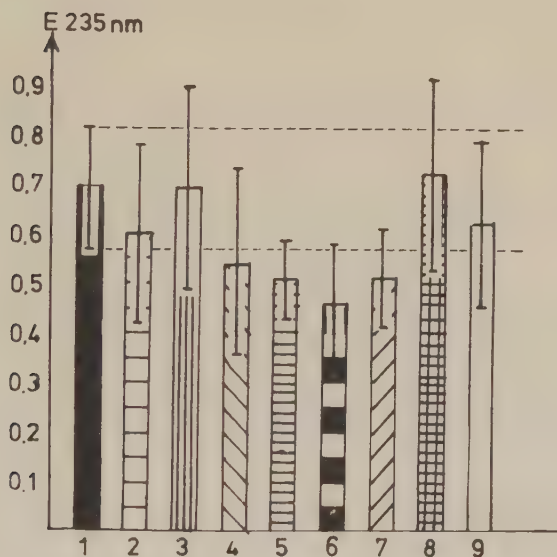
Eine geringfügige Steigerung der MAO-Aktivität bestand im Versuch 8 (1^h 100 %iger O₂ bei Überdruck).

Der MAO-Aktivitätswert im Versuch 9 (1^h 100 %iger O₂ bei Unterdruck) stellte eine mittlere Abweichung nach unten dar.

Stärkere Abweichungen vom Kontrollwert nach unten bestanden nur in den Versuchen 2 (1^h O₂-Mangel bei Normaldruck) und 4 (1^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck).

Abgesehen von den echten Senkungen der MAO-Aktivität in den Versuchen 5, 6 und 7 (s.o.) lagen die Abweichungen der übrigen Werte von der Kontrolle im Bereich der Fehlerbreite. Sie waren statistisch nicht abzusichern (s. Abb. 16).

Abb. 16: MAO-Aktivitäten in der Leber von männlichen Ratten (n = 5)
unter den verschiedenen Versuchsbedingungen



Ordinate: Extinktion bei 235 nm

Abszisse: Versuchsbedingungen

- 1 = Kontrollen
- 2 = 1^h O₂-Mangel bei Normaldruck
- 3 = 1^h O₂-Mangel bei Normaldruck + 1^h Erholung
- 4 = 1^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck
- 5 = 24^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck
- 6 = Vitamin-E-Gabe, 10 Tage lang 100 mg/kg i.m./d
- 7 = Vitamin-E-Mangel, 28 Tage lang
- 8 = 1^h 100 %iger O₂ bei 0,4 Atmosphärenüberdruck
- 9 = 1^h 100 %iger O₂ bei 100 mm Hg unter dem Normaldruck

e) Niere

Gegenüber den Kontrollen wurde infolge von Vitamin-E-Gabe (Versuch 6) die MAO-Aktivität der Rattenniere um den Faktor 0,72 gesenkt. Die anderen Versuchsbedingungen beeinflussten dagegen die MAO-Aktivität in der Niere nicht so stark.

Zwischen der Kontrolle und Versuch 4 (1^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck) bestand Gleichheit in der MAO-Aktivität.

Eine leichte Steigerung bestand im Versuch 2 (1^h O₂-Mangel bei Normaldruck).

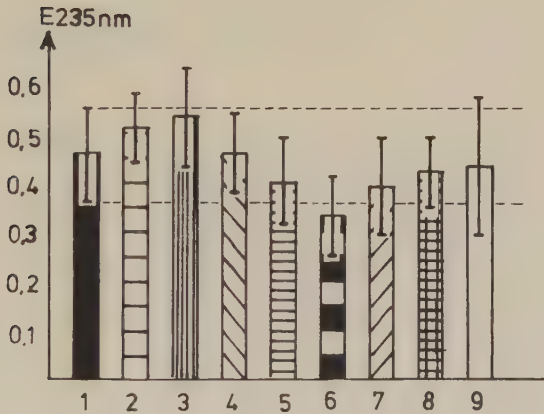
Eine mittlere Steigerung wurde im Versuch 3 (1^h O₂-Mangel bei Normaldruck + 1^h Erholung) verzeichnet.

Leichte Senkungen der MAO-Aktivität bestanden in den Versuchen 8 (1^h 100 %iger O₂ bei Überdruck) und 9 (1^h 100 %iger O₂ bei Unterdruck).

Mittlere Senkungen waren in den Versuchen 5 (24^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck) und 7 (Vitamin-E-Mangel) festzustellen.

Alle diese Abweichungen vom Kontrollwert der MAO-Aktivität lagen, abgesehen vom Wert im Versuch 6 (s.o.), im Bereich der Fehlerbreite. Sie waren statistisch nicht abzusichern (s. Abb. 17).

Abb. 17: MAO-Aktivitäten in der Niere männlicher Ratten ($n = 5$)
unter den verschiedenen Versuchsbedingungen



Ordinate: Extinktion bei 235 nm

Abszisse: Versuchsbedingungen

- 1 = Kontrollen
- 2 = 1^h O_2 -Mangel bei Normaldruck
- 3 = 1^h O_2 -Mangel bei Normaldruck + 1^h Erholung
- 4 = 1^h 100 %iger O_2 bei Normaldruck
- 5 = 24^h 100 %iger O_2 bei Normaldruck
- 6 = Vitamin-E-Gabe, 10 Tage lang 100 mg/kg i.m./d
- 7 = Vitamin-E-Mangel, 28 Tage lang
- 8 = 1^h 100 %iger O_2 bei 0,4 Atmosphärenüberdruck
- 9 = 1^h 100 %iger O_2 bei 100 mm Hg unter dem Normaldruck

f) Milz

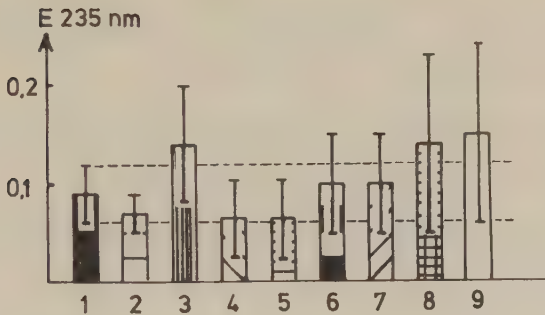
Unter den gegebenen Versuchsbedingungen wurde die MAO-Aktivität der Rattenmilz kaum beeinflusst. Die augenscheinlich hohen MAO-Aktivitätswerte der Versuche 3, 8 und 9 (s.v.) wurden nur als Tendenzen zur Steigerung angesehen. Aufgrund der hohen Standardabweichungen waren diese Werte gegenüber der Kontrolle jedoch nicht als sichere Steigerungen der MAO-Aktivität zu werten.

Dagegen war die MAO-Aktivität in den Versuchen 2 (1^h O_2 -Mangel bei Normaldruck), 4 (1^h O_2 -Mangel bei Normaldruck + 1^h Erholung) und 5 (24^h 100 %iger Sauerstoff bei Normaldruck) gegenüber der Kontrolle geringfügig gesenkt.

In den Versuchen 6 (Vitamin-E-Gabe) und 7 (Vitamin-E-Mangel) wurde die MAO-Aktivität gegenüber der Kontrolle geringfügig erhöht.

Alle Werte der MAO-Aktivität der Milz lagen trotz vorhandener Unterschiede im Bereich der Fehlerbreite. Statistisch abzusichern waren sie nicht (s. Abb. 18).

Abb. 18: MAO-Aktivitäten in der Milz männlicher Ratten (n = 5)
unter den verschiedenen Versuchsbedingungen



Ordinate: Extinktion bei 235 nm

Abszisse: Versuchsbedingungen

- 1 = Kontrollen
- 2 = 1^h O₂-Mangel bei Normaldruck
- 3 = 1^h O₂-Mangel bei Normaldruck + 1^h Erholung
- 4 = 1^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck
- 5 = 24^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck
- 6 = Vitamin-E-Gabe, 10 Tage lang 100 mg/kg i.m./d
- 7 = Vitamin-E-Mangel, 28 Tage lang
- 8 = 1^h 100 %iger O₂ bei 0,4 Atmosphärenüberdruck
- 9 = 1^h 100 %iger O₂ bei 100 mm Hg unter dem Normaldruck

g) Hoden

Die gegebenen Versuchsbedingungen beeinflussten die MAO-Aktivität des Rattenhodens praktisch nicht.

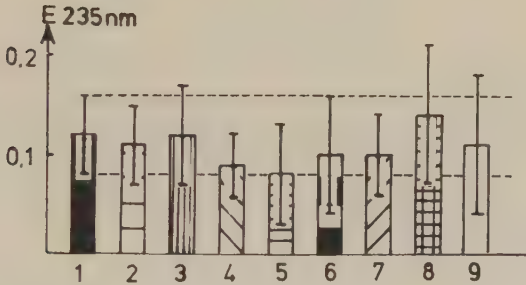
Die MAO-Aktivität entsprach in den Versuchen 2 (1^h O_2 -Mangel bei Normaldruck), 3 (1^h O_2 -Mangel bei Normaldruck + 1^h Erholung) und 9 (1^h 100 %iger O_2 bei Unterdruck) praktisch dem Kontrollwert.

In den Versuchen 6 (Vitamin-E-Gabe) und 7 (Vitamin-E-Mangel) wurde die MAO-Aktivität geringfügig gesenkt.

Am stärksten wich die MAO-Aktivität in den Versuchen 4 (1^h 100 %iger O_2 bei Normaldruck) und 5 (24^h 100 %iger O_2 bei Normaldruck) vom Kontrollwert ab, und zwar nach unten.

Trotz dieser geringfügigen Veränderungen der MAO-Aktivitätswerte lagen diese doch im Bereich der Fehlerbreite. Deshalb waren sie statistisch nicht abzusichern (s. Abb. 19).

Abb. 19: MAO-Aktivitäten im Hoden von Ratten ($n = 5$) unter den verschiedenen Versuchsbedingungen



Ordinate: Extinktion bei 235 nm

Abszisse: Versuchsbedingungen

- 1 = Kontrollen
- 2 = 1^h O₂-Mangel bei Normaldruck
- 3 = 1^h O₂-Mangel bei Normaldruck + 1^h Erholung
- 4 = 1^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck
- 5 = 24^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck
- 6 = Vitamin-E-Gabe, 10 Tage lang 100 mg/kg i.m./d
- 7 = Vitamin-E-Mangel, 28 Tage lang
- 8 = 1^h 100 %iger O₂ bei 0,4 Atmosphärenüberdruck
- 9 = 1^h 100 %iger O₂ bei 100 mm Hg unter dem Normaldruck

3. Übersicht aller in den in-vivo-Versuchen gefundenen MAO-Aktivitätswerte

Tabelle I zeigt die mittleren Extinktionswerte mit den zugehörigen Standardabweichungen für die MAO-Aktivität in den untersuchten Rattenorganen aus den Versuchen 1 - 9 (s.o.).

Zum Vergleich sind die Kontrollwerte (Schn.) aus den Untersuchungen von SCHNEIDER (42) angegeben. Sie sind zugleich Bestätigung für die eigenen Kontrollwerte. Die höhere cardiale MAO-Aktivität der Kontrollen ist darauf zurückzuführen, daß SCHNEIDER mit etwas älteren und schwereren Ratten gearbeitet hatte. Mit zunehmendem Alter nimmt die MAO-Aktivität im Rattenherzen nämlich stetig zu (SCHABER (41) 1974).

Zur besseren Übersicht wurden in Abbildung 20 (S. 42) nochmals alle Ergebnisse aus den durchgeführten in-vivo-Versuchen in einem einzigen Säulendiagramm zusammengefaßt.

Zusätzlich wurden in Abbildung 21 (S. 43) nur die stärksten und statistisch abzusichernden Veränderungen der MAO-Aktivität im Vergleich mit den jeweiligen Kontrollwerten der betreffenden Rattenorgane in einem Säulendiagramm dargestellt. Dazu gibt die Tabelle II (S. 44) an, um welche Faktoren die MAO-Aktivität infolge der jeweiligen Versuchsbedingungen gegenüber den Kontrollen gesteigert (+) oder gesenkt (-) wurde. Dabei wurde die MAO-Aktivität ausgedrückt in Extinktionseinheiten bei 235 nm.

Tab. I: Übersicht der mittleren Extinktionswerte bei 235 nm mit Standardabweichungen für die MAO-Aktivität in den sieben untersuchten Rattenorganen aus den Versuchen I - 9

Vers.-Nr.	Gehirn	Lunge	Herz	Leber	Niere	Milz	Hoden
Schn.	0,30 $\pm$ 0,03	0,18 $\pm$ 0,05	1,09 $\pm$ 0,16	0,53 $\pm$ 0,13	0,42 $\pm$ 0,04	0,10 $\pm$ 0,05	0,10 $\pm$ 0,04
1	0,30 $\pm$ 0,06	0,21 $\pm$ 0,08	0,66 $\pm$ 0,09	0,69 $\pm$ 0,12	0,46 $\pm$ 0,09	0,09 $\pm$ 0,03	0,12 $\pm$ 0,04
2	0,30 $\pm$ 0,08	0,25 $\pm$ 0,05	0,67 $\pm$ 0,15	0,60 $\pm$ 0,18	0,51 $\pm$ 0,07	0,07 $\pm$ 0,02	0,11 $\pm$ 0,04
3	0,31 $\pm$ 0,05	0,25 $\pm$ 0,06	0,81 $\pm$ 0,18	0,69 $\pm$ 0,21	0,52 $\pm$ 0,10	0,14 $\pm$ 0,06	0,12 $\pm$ 0,05
4	0,27 $\pm$ 0,07	0,23 $\pm$ 0,05	0,62 $\pm$ 0,13	0,54 $\pm$ 0,19	0,46 $\pm$ 0,08	0,07 $\pm$ 0,04	0,09 $\pm$ 0,03
5	0,25 $\pm$ 0,06	0,22 $\pm$ 0,08	0,58 $\pm$ 0,11	0,51 $\pm$ 0,08	0,40 $\pm$ 0,09	0,07 $\pm$ 0,04	0,08 $\pm$ 0,05
6	0,30 $\pm$ 0,05	0,25 $\pm$ 0,07	0,50 $\pm$ 0,12	0,46 $\pm$ 0,12	0,33 $\pm$ 0,08	0,10 $\pm$ 0,05	0,10 $\pm$ 0,06
7	0,29 $\pm$ 0,05	0,22 $\pm$ 0,08	0,82 $\pm$ 0,13	0,51 $\pm$ 0,10	0,39 $\pm$ 0,10	0,10 $\pm$ 0,05	0,10 $\pm$ 0,04
8	0,34 $\pm$ 0,08	0,22 $\pm$ 0,07	0,89 $\pm$ 0,17	0,72 $\pm$ 0,20	0,42 $\pm$ 0,07	0,14 $\pm$ 0,09	0,14 $\pm$ 0,07
9	0,38 $\pm$ 0,10	0,28 $\pm$ 0,11	1,20 $\pm$ 0,25	0,62 $\pm$ 0,17	0,43 $\pm$ 0,09	0,15 $\pm$ 0,09	0,11 $\pm$ 0,07

Schn. = Kontrollen SCHNEIDER

1 = Kontrollen

2 = 1^h O₂-Mangel bei Normaldruck

3 = 1^h O₂-Mangel bei Normaldruck + 1^h Erholung

4 = 1^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck

5 = 24^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck

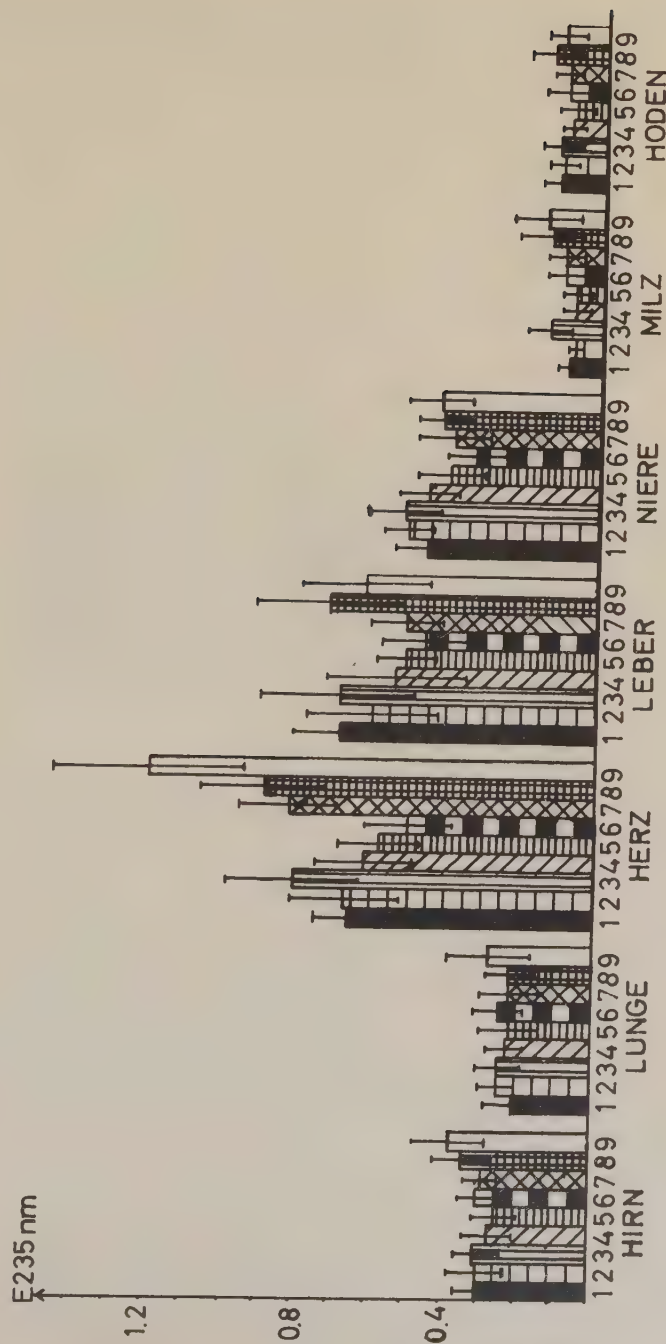
6 = Vitamin-E-Gabe, 10 Tg. lang 100 mg/kg i.m./d

7 = Vitamin-E-Mangel, 28 Tage lang

8 = 1^h 100 %iger O₂ bei 0,4 Atmosphärenüberdruck

9 = 1^h 100 %iger O₂ bei 100 mm Hg unter dem Normaldruck

Abb. 20: Vergleich aller in den in-vivo-Versuchen gefundenen Ergebnisse

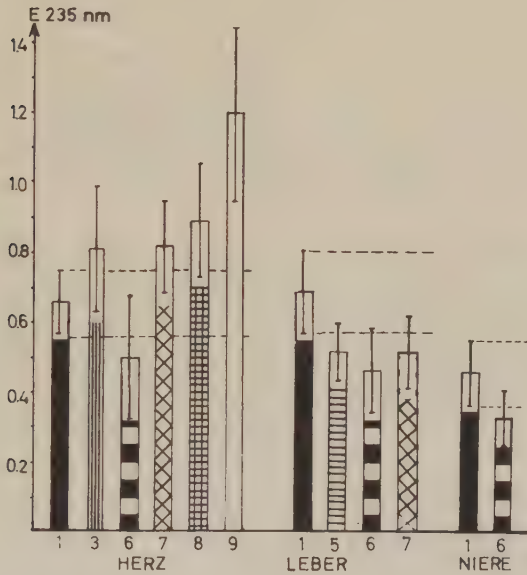


Ordinate: Extinktion bei 235 nm

Abszisse: Versuchsbedingungen der Versuche 1 - 9

- | | |
|---|--|
| 1 = Kontrollen | 6 = Vitamin-E-Gabe, 10 Tg. lang 100 mg/kg i.m./d |
| 2 = 1 ^h O ₂ -Mangel bei Normaldruck | 7 = Vitamin-E-Mangel, 28 Tage lang |
| 3 = 1 ^h O ₂ -Mangel bei Normaldruck + 1 ^h Erholung | 8 = 1 ^h 100 %iger O ₂ bei 0,4 Atmosphärenüberdruck |
| 4 = 1 ^h 100 %iger O ₂ bei Normaldruck | 9 = 1 ^h 100 %iger O ₂ bei 100 mm Hg unter dem |
| 5 = 24 ^h 100 %iger O ₂ bei Normaldruck | Normaldruck |

Abb. 21: Stärkste Veränderungen der MAO-Aktivität in Herz, Leber und Niere im Vergleich mit den Kontrollen



Ordinate: Extinktion bei 235 nm

Abszisse: Versuchsbedingungen

- 1 = Kontrollen
- 3 = 1^h O₂-Mangel bei Normaldruck + 1^h Erholung
- 5 = 24^h 100 %iger O₂ bei Normaldruck
- 6 = Vitamin-E-Gabe, 10 Tage lang 100 mg/kg i.m./d
- 7 = Vitamin-E-Mangel, 28 Tage lang
- 8 = 1^h 100 %iger O₂ bei 0,4 Atmosphärenüberdruck
- 9 = 1^h 100 %iger O₂ bei 100 mm Hg unter dem Normaldruck

Tab. II: Stärkste Veränderungen der MAO-Aktivität ausgedrückt in Extinktionseinheiten bei 235 nm infolge der gegebenen Versuchsbedingungen in den Organen Herz, Leber und Niere nach zunehmenden Steigerungsraten geordnet. Als Bezugsgröße für eine Steigerung bzw. Senkung galten die jeweiligen Kontrollwerte.

Vers.-Nr.	MAO-Aktivität	Faktor: Vers./Kontr.
HERZ		
6	$0,50 \pm 0,12$	- 0,76
1	$0,66 \pm 0,09$	0
3	$0,81 \pm 0,18$	+ 1,22
7	$0,82 \pm 0,13$	+ 1,24
8	$0,89 \pm 0,17$	+ 1,35
9	$1,20 \pm 0,25$	+ 1,82
LEBER		
1	$0,69 \pm 0,12$	0
6	$0,46 \pm 0,12$	- 0,67
5	$0,51 \pm 0,08$	- 0,74
7	$0,51 \pm 0,10$	- 0,74
NIERE		
1	$0,46 \pm 0,09$	0
6	$0,33 \pm 0,08$	- 0,72

1 = Kontrollen

3 = 1^h O₂-Mangel bei Normaldruck + 1^h Erholung

6 = Vitamin-E-Gabe, 10 Tage lang 100 mg/kg i.m./d

7 = Vitamin-E-Mangel, 28 Tage lang

8 = 1^h 100 %iger O₂ bei 0,4 Atmosphärenüberdruck

9 = 1^h 100 %iger O₂ bei 100 mm Hg unter dem Normaldruck

+ = Aktivitätssteigerung gegenüber dem entspr. Kontrollwert

- = Aktivitätssenkung gegenüber dem entspr. Kontrollwert

4. In-vitro-Versuche

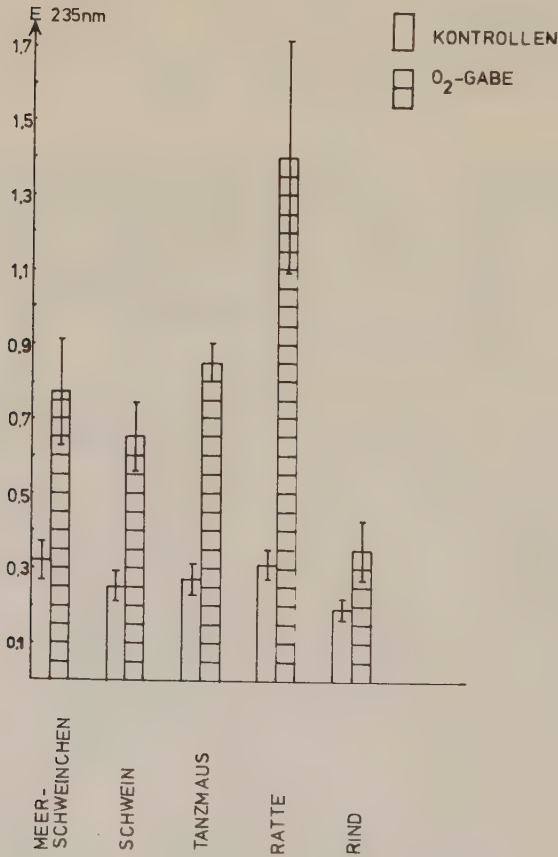
a) Sauerstoffdurchströmung von Hirnhomogenaten verschiedener Tierspezies während der Enzyminkubation

Tabelle III und Abbildung 22 zeigen, wie die MAO-Aktivität im Gehirn verschiedener Tierspezies durch Sauerstoff in vitro beeinflusst wurde. Sie wurde in den Gehirnen aller untersuchten Tierspezies unter den gegebenen Versuchsbedingungen unterschiedlich gesteigert.

Tab. III: Mittelwerte mit Standardabweichungen und Steigerungsraten der MAO-Aktivität ausgedrückt in Extinktionseinheiten bei 235 nm in den Gehirnen verschiedener Spezies nach in-vitro-Sauerstoffgabe (nach zunehmenden Steigerungsraten geordnet). Als Bezugsgröße für eine Steigerung bzw. Senkung galten die jeweiligen Kontrollwerte.

Versuchstiere	Kontrollen	Sauerstoff- gabe	Steigerungs- rate
1. Rind (n = 2)	0,19 $\pm$ 0,03	0,35 $\pm$ 0,08	1,9
2. Meerschwein- chen (n = 5)	0,32 $\pm$ 0,05	0,77 $\pm$ 0,14	2,4
3. Schwein (n = 2)	0,25 $\pm$ 0,04	0,65 $\pm$ 0,09	2,6
4. Tanzmaus (n = 20)	0,27 $\pm$ 0,04	0,85 $\pm$ 0,05	3,2
5. Ratte (n = 10)	0,34 $\pm$ 0,04	1,41 $\pm$ 0,08	4,2

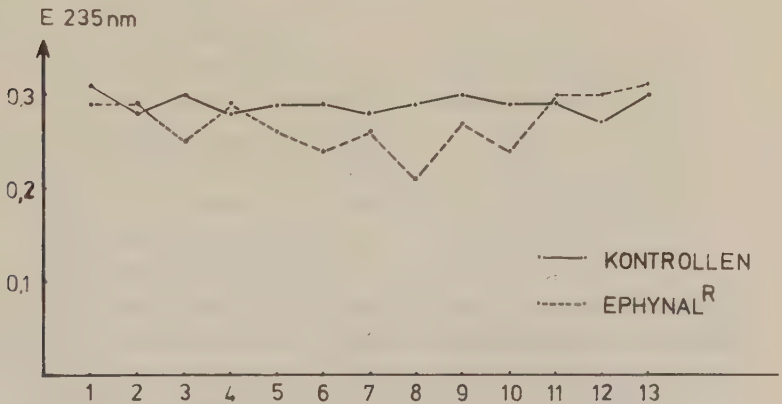
Abb. 22: Vergleich der MAO-Aktivitäten nach in vitro einstündiger Gabe 100 %igen Sauerstoffs an Hirnhomogenate verschiedener Tierspezies



b) Vitamin-E-Zusatz zu Schweinehirnhomogenaten

Abbildung 23 und Tabelle IV zeigen, daß durch Vitamin E im Schweinehirn in vitro die MAO-Aktivität auch bei stetig steigenden Vitamindosen nicht beeinflußt wurde.

Abb. 23: Vitamin-E-Wirkung in vitro auf die MAO-Aktivität des Schweinehirns bei stetig steigenden Vitamin-E-Dosen



Ordinate: Extinktion bei 235 nm

Abszisse: Steigende Vitamin-E-Dosen

1 = 0,02 ml	Ephynal ^R	= 1 mg	Vitamin E
2 = 0,04 ml		= 2 mg	
3 = 0,06 ml		= 3 mg	
4 = 0,08 ml		= 4 mg	
5 = 0,10 ml		= 5 mg	
6 = 0,12 ml		= 6 mg	
7 = 0,14 ml		= 7 mg	
8 = 0,16 ml		= 8 mg	
9 = 0,18 ml		= 9 mg	
10 = 0,20 ml		= 10 mg	
11 = 0,22 ml		= 11 mg	
12 = 0,24 ml		= 12 mg	
13 = 0,26 ml		= 13 mg	

Tab. IV: Mittelwerte mit Standardabweichungen der MAO-Aktivität des Schweinehirns nach stetig steigenden in vitro verabreichten Vitamin-E-Dosen im Vergleich mit den entsprechenden Kontrollwerten

Kontrollen	Nr.	Vitamin E
0,31 $\pm$ 0,03	1	0,29 $\pm$ 0,03
0,28 $\pm$ 0,03	2	0,29 $\pm$ 0,03
0,30 $\pm$ 0,03	3	0,25 $\pm$ 0,05
0,28 $\pm$ 0,02	4	0,29 $\pm$ 0,03
0,29 $\pm$ 0,01	5	0,26 $\pm$ 0,05
0,29 $\pm$ 0,02	6	0,24 $\pm$ 0,03
0,28 $\pm$ 0,03	7	0,26 $\pm$ 0,02
0,29 $\pm$ 0,02	8	0,21 $\pm$ 0,03
0,30 $\pm$ 0,03	9	0,27 $\pm$ 0,07
0,29 $\pm$ 0,02	10	0,24 $\pm$ 0,03
0,29 $\pm$ 0,03	11	0,30 $\pm$ 0,02
0,27 $\pm$ 0,03	12	0,30 $\pm$ 0,02
0,30 $\pm$ 0,03	13	0,31 $\pm$ 0,02

V. Besprechung der Ergebnisse

Sinn der Untersuchungen war es festzustellen, wie sich ein verändertes Sauerstoffangebot unter verschiedenen Versuchsbedingungen und das als Antioxidans bekannte Vitamin E auf die MAO-Aktivität verschiedener Rattenorgane auswirken. Deshalb erschien die Fragestellung interessant, zumal bekannt ist, daß die MAO zur oxidativen Desaminierung biogener Amine Sauerstoff benötigt.

Die MAO ist in den meisten Geweben von Vertebraten nachgewiesen worden (UDUPA et al. (48) 1974, VACCARI et al. (49) 1972). Sie ist in den Zellen an die Außenmembran der Mitochondrien strukturgebunden (KIM und D'IORIO (27) 1967, AKOPYAN et al. (2) 1970, HOUSLAY und TIPTON (23) 1974). HAWKINS (22) zeigte schon 1952, daß die MAO in den Leberzellen von Ratten zu zwei Dritteln an den Mitochondrien und zu einem Drittel an den Mikrosomen lokalisiert ist. Diesen Befund konnte SCHNEIDER (42) auch für das Schweinehirn bestätigen.

Da die MAO also an den Organellen lokalisiert ist, an denen sich die Atmung abspielt, war anzunehmen, daß bei verändertem Sauerstoffangebot ein Einfluß auf die MAO-Aktivität zu verzeichnen gewesen wäre. Ebenso wurde angenommen, daß Vitamin E einen Einfluß auf die MAO-Aktivität haben könnte, weil es vermutlich in der Atmungskette eine Rolle spielt. (BUDDEKE (10) 1974, FORTH et al. (16)).

1. Zu Material und Methode

Die Beschaffung gewichts- und altersmäßig etwa gleicher Ratten des Wistar-Stammes sowie die Organhomogenisierung und die MAO-Aktivitätsbestimmung bereiteten keine Schwierigkeiten. Es bedurfte auch keiner Vorversuche, da ausreichende Erfahrungen aus analogen Untersuchungen im gleichen Labor vorlagen.

2. Zum akuten Sauerstoffmangel

Ebenso wie bei BÜCHNER und ONISHI (9) 1966 wurden die Ratten unmittelbar nach dem akuten Sauerstoffmangel getötet, um so die Wirkung dieses Mangels an den Organen ohne zusätzliche Einflüsse einer Erholungspause untersuchen zu können.

Zahlreiche Autoren (MÖLBERT (32) 1957 und (33) 1958, THEMANN (47) 1963, HASPER (20) 1964, HAUSAMEN und POCHÉ (21) 1965, SULKIN und SULKIN (45) 1965 sowie BÜCHNER und ONISHI (9) 1966) hatten in ihren Untersuchungen mit Sauerstoffmangel immer wieder charakteristische Mitochondrienveränderungen gesehen. Diese Veränderungen reichten je nach Versuchsbedingungen von Mitochondrienschwellung über Cristolyse mit Erhaltung der Außenmembran bis zur vollständigen Mitochondrienhomogenisierung. Diese Veränderungen wurden als Ausdruck akuter Hemmung der Atmungsprozesse angesehen.

Von diesen Befunden ausgehend war angenommen worden, daß unter den hier gegebenen Versuchsbedingungen die MAO infolge von eventuell aufgetretenen Mitochondrienschädigungen nicht mehr 100 %ig aktiv sein würde. Bei der Auswertung der Ergebnisse der eigenen Sauerstoffmangelversuche konnte hingegen in keinem der untersuchten Organe eine Beeinflussung der MAO-Aktivität festgestellt werden. Demnach schien der noch vorhandene Sauerstoff ausgereicht zu haben, um die MAO vollkommen funktionsfähig zu halten.

3. Zum akuten Sauerstoffmangel mit anschließender Erholung

Im Gegensatz zu den vorhergegangenen Sauerstoffmangelversuchen wurden die Ratten hier nicht unmittelbar nach dem einstündigen Sauerstoffmangel getötet. Vielmehr konnten sie sich zunächst noch eine Stunde lang bei Normalbedingungen in ihrem Käfig von dem vorangegangenen Sauerstoffmangel erholen. Erst nach dieser einstündigen Erholungspause wurden sie getötet. Bei der Bestimmung der MAO-Aktivität zeigte dann lediglich das Herz eine Steigerung um den Faktor 1,2. In den übrigen untersuchten Organen war die MAO-Aktivität dagegen unverändert.

Ein Vergleich der Ergebnisse beider Versuche "Einstündiger Sauerstoffmangel bei Normaldruck" und "Einstündiger Sauerstoffmangel bei Normaldruck mit anschließender einstündiger Erholung" mit der Kontrolle zeigte, daß abgesehen vom Herzen im letzten Versuch die MAO-Aktivität der einzelnen untersuchten Organe praktisch gleich war.

Aus diesem Ergebnis war zu schließen, daß infolge des nur einstündigen Aufenthaltes der Ratten in der Sauerstoffmangel-Atmosphäre die Mitochondrien noch nicht die o.a. charakteristischen Strukturveränderungen auf-

wiesen. Diese hätten nach einer Stunde Erholung der Ratten noch nicht reversibel gewesen sein können. MÖLBERT (32), HASPER (20) sowie SULKIN und SULKIN (45) sahen nämlich erst nach genügend langer Erholungszeit ihrer Versuchstiere, die bis zu maximal 12 Tagen dauerte, daß diese Veränderungen reversibel waren. Dabei hatten die Mitochondrien teilweise sogar ihre ursprüngliche Form wiedererlangt (MÖLBERT (32)).

Aufgrund dieser Tatsachen konnte die MAO-Aktivität im vorliegenden Versuch nicht verändert worden sein. Wären die Mitochondrien in ihrer Struktur geschädigt worden, hätte die MAO-Aktivität verändert sein müssen, denn es darf wohl angenommen werden, daß mit einer Schädigung der Mitochondrienstruktur auch eine Beeinträchtigung ihrer enzymatischen Aktivität einhergeht.

4. Zur Gabe reinen Sauerstoffs

Wie bereits eingangs erwähnt, benötigt die MAO zur Enzymkatalyse Sauerstoff. Deshalb sollte untersucht werden, wie sich dieses Enzym in vivo nach der Gabe von 100 %igem Sauerstoff verhält. Es wäre anzunehmen, daß infolge eines Überangebotes an Sauerstoff vom Enzym mehr Sauerstoff zur Katalyse verbraucht werden könnte.

Nach einstündiger Gabe reinen Sauerstoffs zeigte keines der untersuchten Rattenorgane eine veränderte MAO-Aktivität. Deshalb wurde die Sauerstoffgabe dann auf 24 Stunden ausgedehnt. Dies war ohne weiteres möglich, da bei der Gabe von 100 %igem Sauerstoff die Ratten bis zu 48 Stunden ohne Anzeichen von Sauerstofftoxizität in dieser Atmosphäre gehalten werden können. Erst wenn sie länger unter diesen Bedingungen gehalten werden, verenden die Tiere (BERT (3) 1878 zitiert bei BÜCHNER (6) 1940, KARSNER (26) 1916, ROSENBAUM et al. (39) 1969). ROSENBAUM stellte bei Untersuchungen über Sauerstofftoxizität an den Lungen von Ratten, die 48 Stunden lang 100 %igen Sauerstoff geatmet hatten, keine Veränderungen an den Mitochondrien fest. Der verabreichte Sauerstoff schien unter den gegebenen Bedingungen nicht toxisch gewesen zu sein.

Nachdem die Ratten im hier vorliegenden Versuch 24 Stunden lang reinen Sauerstoff geatmet hatten, zeigte sich, daß die MAO-Aktivität auch hier wie im einstündigen Versuch unter diesen Versuchsbedingungen in keinem der untersuchten Organe beeinflusst wurde. Demnach schien dieses Enzym

bei Katten erhalten wurde auf die Übertragung der Nervenfaser zu übertragen.

5. Zur Neurostoffaufnahme bei Überdruck

Zunächst war anzunehmen, daß der Überdruck der Nervenfaser eine gleichzeitigen Überdruck der Neurostoffaufnahme aller zu untersuchenden Organe steigerte würde, nachdem in den vorangegangenen Neurostoffversuchen normale Druckverhältnisse hergestellt waren. Die MGL-Aktivität wurde aber nur in Nerven geprüft. Die Aktivität war hier gegenüber der entsprechenden Kontrolle in der Faser 1,5 gesteigert worden. In der anderen untersuchten Organe war die MGL-Aktivität nicht gestiegen. Dies zeigte sich wieder wie in den Neurostoffversuchen der Normaldruck, daß die MGL der Faserkapsel nur ein bestimmtes Maß an Neurostoff benötigt.

6. Zur Neurostoffaufnahme bei Überdruck

Hier wurde der Katten der reine Neurostoff bei gleichzeitig bestehendem Überdruck zugeführt. Durch diese Druckveränderung sollte keine spezielle Induktion wirken, wie dies bei Untersuchungen mit Licht der Fall ist. Deshalb wurde 100 µg reinen Neurostoff verwendet. Bestimmte Organe der Untersuchungen wurden sich nämlich nicht nur schuldig auf die Funktionen des Organismus aus, sondern sie waren auch Veränderungen in der Struktur des Organs blickend (Licht (1) 1972).

In Frage stand, ob eine Steigerung der MGL-Aktivität infolge verbesserten Neurostoffaufnahme in der untersuchten Organe folgendermaßen bestehende können könnte. Bei der Anpassung des Organismus an den hier beobachteten Überdruck kommt es durch Kapillarendothelvergrößerung zu einer verbesserten Kapillarisierung in allen Organen (SNAKE (2) 1973). Dadurch wird die Diffusionsoberfläche für den Neurostoff vergrößert, und die Diffusionsstruktur werden verbessert.

In vorliegenden Versuch war jedoch allein in Nerven die MGL-Aktivität beeinflusst worden, während sie in den übrigen untersuchten

Rattenorganen unter diesen Versuchsbedingungen unbeeinflusst geblieben war. Die MAO-Aktivität wurde im Herzen gegenüber der entsprechenden Kontrolle um den Faktor 1,8 erhöht.

7. Zur Sauerstoffgabe in vitro

Nach den in vivo erzielten Ergebnissen, die aus Versuchen mit verschiedenen Sauerstoffangeboten herrührten, wurde untersucht, wie sich Sauerstoff in vitro auf die MAO auswirkt.

Dazu wurden neben den Homogenaten von Rattenhirnen auch noch diejenigen von Meerschweinchen, Tanzmaus, Rind und Schwein in die Untersuchungen miteinbezogen. Bereits die Kontrollversuche an unbeeinflussten Gehirnen der verschiedenen untersuchten Wirbeltiere (s. Tab. III, S. 45 und Abb. 22, S. 47) zeigten, daß die MAO-Aktivität in diesen Gehirnen speziesabhängig war. Unter Sauerstoff-Zusatz bestätigte sich diese Speziesabhängigkeit erneut und schien auch unter diesen Bedingungen für die Gehirne der einzelnen Spezies recht charakteristisch zu sein. Interessanterweise wurde dabei im Gegensatz zum in-vivo-Versuch im in-vitro-Versuch die MAO-Aktivität gegenüber der Kontrolle im Rattengehirn gesteigert, und zwar um den Faktor 4,2. Auf die Speziesabhängigkeit der MAO-Aktivität wies auch NOVICK (34) bereits 1966 hin, als er in vitro verschiedenen Organ- gewebe verschiedener Tierspezies Sauerstoff in verschieden hoher Spannung zuführte. In seinen Versuchen nahm die MAO-Aktivität mit steigender Sauerstoffspannung zu.

8. Zu den Vitamin-E-Versuchen

In den hier durchgeführten Untersuchungen wurden den Ratten pro die 100 mg Vitamin-E-Acetat/kg Rattengewicht i.m. verabreicht. Es lag im EPHYNAL^R in einer günstigen Darreichungsform als kolloidale wässrige Lösung vor. Dem Vitamin-E-Acetat wurde auch deshalb der Vorzug gegeben, weil es nicht wie Vitamin-E-Nicotinat durch eine gesteigerte Sauerstoffaufnahme infolge eines verbesserten Gasaustausches (RENASCIN^R) die MAO-Aktivität beeinflusst. Das Vitamin-E-Acetat ist zudem gegen Licht und Sauerstoff stabiler als reines

Vitamin E (DAWSON et al. (11) 1968). Im Übrigen besteht in Herz, Leber, Niere und Milz nach mehr als 12 Stunden eine höhere Aufnahme von Vitamin E nach Verabreichung seines Acetats (GALLO-TORRES et al. (18) 1970).

Hinsichtlich der Dosierung des Vitamin-E-Acetats bestanden keine Schwierigkeiten, denn DEMELLE (12) hatte bereits 1939 zeigen können, daß sowohl α , β -Tocopherol wie auch dessen Acetat selbst in höheren Dosen (50 g/kg), auch über 1 - 2 Monate verabreicht, bei Mäusen, Ratten, Menden und Katzen nicht toxisch wirkte.

Nach Auswertung der Versuche stellte sich heraus, daß durch den Einfluß von Vitamin E die MAO-Aktivität in Herz, Leber und Niere gegenüber den entsprechenden unbeeinflussten Kontrollen deutlich gesteigert wurde. Die übrigen untersuchten Organe zeigten keine Beeinflussung ihrer MAO-Aktivität.

Nach Vitamin-E-Mangel dagegen zeigte allein das Herz eine erhöhte MAO-Aktivität. Sie war hier gegenüber der Kontrolle um den Faktor 1,2 gesteigert.

Schließlich wurde *in vitro* am Schweinehirn untersucht, ob Vitamin E auch einen Einfluß auf die MAO-Aktivität ausübt. Dabei stellte sich aber auch nach stetig gesteigerter Vitamin-E-Dosis keine Beeinflussung der MAO-Aktivität heraus. Damit stimmte dieses Ergebnis mit dem *in vivo*-Versuch am Rattengehirn überein. Zwar kann Vitamin E die Blutgefäß-Schmalle passieren (DWIN et al. (14) 1960), aber es scheint nicht in der Lage zu sein, dort einen Einfluß auf die MAO auszuüben.

Bei abschließender Betrachtung der Untersuchungsergebnisse fiel auf, daß von den untersuchten sieben Rattenorganen unter den verschiedenen gegebenen Versuchsbedingungen nur an drei Organen auffallende Veränderungen der MAO-Aktivität zu verzeichnen waren: an Herz, Leber und Niere. Die anderen untersuchten Organe blieben dagegen hinsichtlich ihrer MAO-Aktivität praktisch unbeeinflusst. Daß unter den o.a. drei Organen wiederum das Herz am deutlichsten auf die Einflüsse von außen reagierte, erschien verständlich: Ist es doch dasjenige Organ, welches ständig ohne Ruhepause arbeitet. Offenbar sind die Mitochondrien in Anpassung an den intensiven Stoffwechsel im Herzen "weit aufbereitet" (SCHUBERT (7) 1969) als z.B. in der Skelettmuskelzelle.

V. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung von Sauerstoffmangel, Sauerstoffüberschuß und Vitamin E auf die Aktivität der Monoaminoxidase (MAO, E.C. 1.4.3.4.) in sieben verschiedenen Rattenorganen (Hirn, Lunge, Herz, Leber, Niere, Milz, Hoden) in vivo untersucht. Diese Untersuchungen wurden an männlichen Ratten des Stammes Wistar AF/Han durchgeführt. Die Enzymaktivität der Monoaminoxidase wurde nach der POPOV'schen Methode bestimmt.

In den zunächst durchgeführten Kontrollversuchen wurde in vivo die MAO-Aktivität in den sieben Organen unbeeinflusster Ratten bestimmt. Die dabei photometrisch ermittelten MAO-Aktivitätswerte stellten die Kontrollwerte dar. Diese Werte galten als Bezugswerte für die später unter den verschiedenen Versuchsbedingungen aufgetretenen MAO-Aktivitätssteigerungen bzw. -senkungen.

Nach einstündigem Sauerstoffmangel bei Normaldruck sowie nach einstündigem Sauerstoffüberschuß bei Normaldruck wurde die MAO-Aktivität in keinem der sieben untersuchten Organe verändert. Dagegen wurde nach 24-stündigem Sauerstoffüberschuß bei Normaldruck die MAO-Aktivität in der Leber um den Faktor 0,74 gesenkt.

Nach einstündigem Sauerstoffmangel bei Normaldruck mit anschließender einstündiger Erholung unter Normalbedingungen wurde die MAO-Aktivität im Herzen um den Faktor 1,22 gesteigert. Alle übrigen untersuchten Organe zeigten gegenüber den entsprechenden Kontrollwerten keine Veränderung ihrer MAO-Aktivität.

Nach einstündiger Gabe reinen Sauerstoffs bei Überdruck kam es allein im Herzen zu einer MAO-Aktivitätssteigerung um den Faktor 1,35.

Einstündige Gabe reinen Sauerstoffs bei Unterdruck führte im Herzen sogar zu einer Steigerung der MAO-Aktivität um den Faktor 1,82.

Zehntägige Gabe von 100 mg Vitamin E/kg Rattengewicht i.m./d senkte die MAO-Aktivität im Herzen um den Faktor 0,76, in der Leber um den

Texten 2, 37 und 38 der Werte im Texten 2, 34. Die übrigen vier untersuchten Organe blieben hinsichtlich ihrer MCh-Aktivität unbeeinflusst.

Eine 20-tägige Vitamin-B-Mangelkur bewirkte im Herzen eine Steigerung der MCh-Aktivität im Texten 1, 24. Zugabe wurde sie in der Leber im Texten 2, 38 gemessen. Die MCh-Aktivität der anderen untersuchten Organe blieb unbeeinflusst.

Es wurde auch im Zusammenhang gezeigt, daß Vitamin B einer der hier gegebenen Versuchszustände die MCh-Aktivität nicht veränderte. Dies stimmt mit dem Vitamin-B-Mangel am September überein.

Durch die Zugabe von reinem Sauerstoff an Nahrungsmitteln von Meerschweinchen, Ratten, Kanarienvögeln, Ratten und Kanarienvögeln wurde die MCh-Aktivität in allen Organen im Texten 2, 34 gesteigert. Diese Enzymaktivitätssteigerung war artspezifisch.

VI. Literaturverzeichnis

1. AKINDELE, M.O., J.I. IVAN and J. SANKU, Membrane Oxidase Localization, sleep and mood, *Elektroenceph.Clin.Neurophysiol.* 79, 47-56 (1977)
2. AKOPYAN, Zh.I., I.V. VIKTOROVA, M.I. LEVIAN, I.A. KOSYVITINA, V.Z. GOPYIN and V.M. DOKUCH, On the location and participation of structure-bound proteins (Membrane Oxidases of Mitochondrial Membranes), *Int.J.Protein Research* 11, 121-130 (1977)
3. BERT, P., La pression barométrique, Paris (1878)
4. BRAASCH, D., Persönliche Mitteilungen
5. BUDEKE, E., Grundriß der Biologie, 4. Aufl. 1974, Walter de Gruyter u. Co. Berlin
6. BUCHNER, F., Die pathogenetische Bedeutung der Hypoxie, Vortrag gehalten am 6. Juli 1967 vor der Deutschen Ärzteschaft
7. Ders., Über experimentelle Hockerpathologie, Vortrag, gehalten in der 300. Sitzung der Freiburger Medizinischen Gesellschaft am 16. Juli 1946
8. Ders., Die Veränderungen der Ultrastruktur der Herzmuskelzelle bei Störungen der Aerobie
9. Ders., Das Hirn bei allgemeinen Anoxie- und Durchblutungsstörungen, Vorlesung vor der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg am 6. Mai 1963
- Alle in: Grundmann, E. (Hrsg.): Franz Buchner, Hypoxie, Beiträge aus den Jahren 1932-1972
10. BUCHNER, F. und E. DUNST, Fraktionen der akuten hypoxischen Veränderung der Herzmuskelzelle in elektronenmikroskopischen Bild und ihre Bedeutung für die akute hypoxische Herzinsuffizienz, *Beitr.patr.Anat.* 135, 153-182 (1967)
11. DAWSON, E.M.C., D.C. ELLIOT, W.H. ELLIOT and K.M. YAGI, *Units for biochemical research*, 2nd.ed. 1968, Oxford
12. DEMOLE, V., Pharmacologisches über Vitamin E (Vertraglichkeit des synthetischen d,l- α -Tocopherols und seines Acetats), *Z.Vitaminforsch.* 8, 338-341 (1938/39)
13. DOCUMENTA GEISY, Wissenschaftliche Tabellen, 7. Aufl. 1968, J.P. Geigy A.G., Pharma, Basel
14. EDWIN, E.E., A.T. DIPLOK, J. BUNYAN and J. SPILL, Studies on Vitamin E (The distribution of vitamin E in the rat and the effect of α -Tocopherole and dietary Selenium on Ubiquinone and Ubiquinoneol in tissues), *Biochem.J.* 79, 91-105 (1961)
15. FIEKAS, H.-J., Monominoxidase-Aktivitätsbestimmungen in verschiedenen Organen und Hirngebieten einiger Haus- und Wogetiere, Dissertation Marburg 1974

16. FORTH, W., D. HENSCHLER und W. RUMMEL, Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, Bibliographisches Institut Mannheim, 1975
17. FREICKMANN, H.-J., Über die Monoaminoxidase-Aktivität in verschiedenen Hirnregionen von Patienten mit Herzinsuffizienz, Dissertation Marburg 1974
18. GALLO-TORRES, H.E., O.N. MILLER, J.G. HAMILTON and C. TRANYEK, Distribution and metabolism of two orally administered esters of Tocopherole, *Lipids* 6, 318-325 (1970)
19. GUGGENHEIM, M., Die Biogenen Amine, 4. Aufl. 1951, Karger, Basel
20. HASPER, B., Ultramikroskopische Herzmuskelveränderungen nach wiederholter Hypoxie, *Beitr.path.Anat.* 130, 321-351 (1964)
21. HAUSAMEN, T.U. und R. POCHE, Die Ultrastruktur des Herzmuskels der Ratte nach einmaligen und wiederholten Unterdruckversuchen, *Virchows Arch.path.Anat.* 339, 212-224 (1965)
22. HAWKINS, J., The lokalisation of Amino Oxidase in the liver cell, *Biochem.J.* 50, 577-581 (1952)
23. HOUSLAY, M.D. and K.F. TIPTON, A kinetic evaluation of Monoamine Oxidase Activity in rat liver mitochondrial outer membranes, *Biochem.J.* 139, 645-652 (1974)
24. KAMBERI, I.A. and Y. KOBAYASHI, Monoamine Oxidase Activity in the hypothalamus and other brain areas and in some endocrine glands of the rat during the estrous cycle, *J.Neurochem.* 17, 261-268 (1970)
25. KARLSON, P., Kurzes Lehrbuch der Biochemie, 7. Aufl. 1970, Thieme Stuttgart
26. KARSNER, H.T., *J.Exp.Med.* 23, 149-177 (1916)
27. KIM, H.C. and A. D'IORIO, Possible isoenzymes of Monoamine Oxidase in rat tissues, *Can.J.Biochem.* 46, 295-297 (1968)
28. KOBAYASHI, T., Y. KOBAYASHI, J. KATO and H. MINAGUCHI, Fluctuations in Monoamine Oxidase Activity in the hypothalamus of the rat during the estrous cycle and after castration, *Endocr.Jap.* 11, 283-290 (1964)
29. KUHS, K., Abhängigkeit der Monoaminoxidase-Aktivität des Schweinehirns von Steroidhormonen, Dissertation Marburg 1973
30. LEMAY, A. et L. BERLINGUET, Influence de la castration et de hormones sexuelles sur l'activité de la Monoamine Oxydase chez le rat, *Rev.Can. Biol.* 26, 295-303 (1967)
31. LOEWY, A., Physiologie des Höhenklimas, Springer Berlin, 1932
32. MÖLBERT, E., Das elektronenmikroskopische Bild der Herzmuskelzelle nach akuter Hypoxie, in: Probleme der Coronardurchblutung, Bad Oeynhauser Gespräch II, 18./19. 10. 1957

33. Dies., Die Herzmuskelzelle nach akuter Oxidationshemmung im elektronenmikroskopischen Bild, Beitr.path.Anat. 118, 421-435 (1958)
34. NOVICK, W.J., Effect of oxygen tension on Monoamine Oxidase Activity, Biochem.Pharmacol. 15, 1009-1012 (1966)
35. OEPEN, H., Persönliche Mitteilungen
36. POPOV, N., V. RÖSLER, CHR. THIEMANN und H. MATTHIES, Eine empfindliche Methode zur Bestimmung der Monoaminoxidase-Aktivität im Gewebe durch Aldehyd-Semikarbazon-Messung, Acta.biol.med.germ. 26, 239-245 (1971)
37. PRANGE, A.J., J.E. WHITE, M.A. LIPTON and A.K. KINKEAD, Influence of age on Monoamine Oxidase and Catechol-O-Methyl-Transferase in rat tissues, Life Sci. 6, 581-587 (1967)
38. RENASCIN^R, Firmenprospekt der Med.Wiss.Abt. der Fa. Heinr. Mack Nachf., Illertissen/Bay., 1975
39. ROSENBAUM, R.M., M. WITTNER and M.D. LANGER, Mitochondrial and other ultrastructural changes in great alveolar cells of Oxygen-adapted and poisoned Rats, Lab.Investig. 20, 516-528 (1969)
40. SALSEDUC, M.M., I.J. JOFRE and J.A. IZQUIERDO, Monoamine Oxidase and Catechol-O-Methyl-Transferase Activity in cerebral structures and sexual organs of rats during their estrous cycle, Med.Pharmakol.Exp. (Basel) 14, 113-119 (1966)
41. SCHABER, C.D., Über die Altersabhängigkeit der Monoaminoxidase-Aktivität in einigen Organen der Ratte, Dissertation Marburg 1974
42. SCHNEIDER, G., Persönliche Mitteilungen
43. SCHNEIDER, M., Einführung in die Physiologie des Menschen, 16. Aufl. 1973, Springer Berlin
44. SCHRÖDER, F., Monoaminoxidase-Aktivitätsbestimmungen in Rattenhirn-homogenaten und in Mitochondrienfraktionen von Ratten- und Schweinehirnen sowie Untersuchungen über die Wirkung von Steroidhormonen auf die Enzymaktivität, Dissertation Marburg 1973
45. SULKIN, N.M. and D. SULKIN, An electron microscopic study on the effects of chronic hypoxia on cardiac muscle and autonomic ganglion cells, Lab.Investig. 14, 1523-1546 (1965)
46. Dies., Mitochondrial alterations in liver cells following Vitamin-E-deficiency, V. Internat. Congr. f. Electronmicroscopy, Philadelphia, Vol. II, V, V-8
47. THEMANN, H., Elektronenoptische Untersuchungen über das Glykogen im Zellstoffwechsel, Veröffentl.morphol.Path. H 66, Stuttgart 1963
48. UDUPA, A., S. SRINAVASAN and K. N. UDUPA, Monoamine Oxidase in health and disease, Ind.J.Physiol.Pharmac. 18/2, 73-85 (1974), Indien
49. VACCARI, A., M. MAURA, M. MARCHI and F. CUGURRA, Development of Monoamine Oxidase in several tissues in the rat, J.Neurochem. 19, 2453-2457 (1972)

50. VAN VLEET, J.F., V. HALL and J. SIMON, Vitamin-E-Deficiency: A sequential light and electron microscopic study of skeletal muscle degeneration in weanling rabbits, Amer.J.Path. 52, 1067-1079 (1968)
51. ZOLOVICK, A.J., R. PEARSE, K.W. BOEHLKE and B.E. ELEFThERIOU, Monoamine Oxidase Activity in various parts of brain during the estrous cycle, Sci. 154, 649 (1966)

Lebenslauf

Am 16. 6. 1947 wurde ich, Wolfgang Joachim Holthoff, in Braunschweig als Sohn des Tierarztes Dr. Hans-Joachim Holthoff und dessen Ehefrau Renata, geb. von Engelmann, geboren.

Von 1954 - 61 besuchte ich in Berlin die Grundschule und das humanistische Gymnasium. Nach der Übersiedlung nach Illertissen in Bayern besuchte ich bis 1968 das Kolleg der Schulbrüder, ein math.-nat. Gymnasium in Illertissen. Dort legte ich im Juli 1968 das Abitur ab.

Nach dem Wehrdienst von 1968 - 70 studierte ich an der Universität Tübingen vier Semester Biologie. Das Grundstudium beendete ich mit dem Vordiplom in Biologie. Danach wechselte ich an die Universität Marburg über, um dort Humanbiologie weiterzustudieren.

Mein Studium endet im Frühjahr 1976 mit dem examen rigorosum für Humanbiologen und mit der anschließenden Promotion.

Meine akademischen Lehrer waren die Frauen und Herren Professoren und Dozenten

an der Eberhard-Karls-Universität
in Tübingen

: Babel, Beyer, Bentrup, Bunke, Dähn,
Engelmann, Frank, Guglielmi, Hadeler,
Kömpf, Krüger, Kulzer, Mägdefrau,
Metzner, Mickoleit, Möhres, Mörike,
Müller, E., Netzel, Pracht, Rähle,
Rieker, Ritter, Schmitt, Schwartz, V.,
Schwemmle, Seiler, Weitzel, Weser;

an der Philipps-Universität
in Marburg/Lahn

: Amon, Braun, Cramer, Gottesbüren,
Haberich, Heubel, Hort, Ihm, Kaf-
farnik, Karlson, Koransky, von Kraft,
Krüpe, Langer, Ludwig, Mannheim,
Oepen, Petry, Pollmann, Portig,
Schiff, Schmid, Siegert, Slenczka,
Thoenes, Utermann, Vogel, Wendt,
Wesemann.

